

Presencia de micronúcleos en mucosa oral de individuos post radiografías endodónticas.

Presence of micronucleus in oral mucosa of individuals post endodontic radiographies.

Alejandra Herrera Herrera¹

Luis Fang²

Carlos Corrales Payares³

¹ Facultad de Odontología. Universidad Metropolitana. Barranquilla. Colombia.

² Facultad de Odontología. Fundación Universitaria San Martín. Barranquilla. Colombia.

³ Programa de Odontología. Corporación Universitaria Rafael Núñez. Cartagena de Indias. Colombia.

RESUMEN

Introducción: El daño genético es probablemente la causa más importante para el desarrollo de anomalías y enfermedades degenerativas, pero son pocos los estudios que se centran en la medición y evaluación de los efectos genotóxicos de los productos que son de gran utilidad en la práctica clínica, como es el caso de las radiografías.

Objetivo: Comparar la presencia de anomalías nucleares en células de la mucosa bucal de individuos bajo exposición radiográfica intraoral.

Metodología: Se implementó un diseño de intervención cuasiexperimental antes y después con un solo grupo de estudio constituido por 30 individuos que recibieron tratamiento de conducto radicular y cinco exposiciones radiográficas periapicales requeridas en dicho tratamiento. Se tomaron muestras de exfoliado celular en mucosa yugal adyacente al órgano dentario intervenido antes y 15 días post-tratamiento. Mediante tinción de Giemsa y microscopía óptica se evaluó la presencia de anomalías nucleares como: binucleación, picnosis, cariólisis, cariorexia y micronúcleos.

Resultados: De las anomalías nucleares evaluadas la cariorexia estuvo presente en 90% antes y 96,7% después de la exposición radiográfica; seguida por la cariólisis en el 76,7% y 73,3%, respectivamente. Por su parte la presencia de micronúcleos antes de la exposición radiográfica fue del 53,3% la cual aumentó significativamente al 83,3% posterior a la radiación, lo que representa un incremento del 36,7% ($p=0,022$). Esto representa una media de 1,7 \pm 2,2 células epiteliales con micronúcleos antes de la exposición lo cual aumenta a 4,4 \pm 4,6 células con este daño nuclear posterior a la intervención ($p=0,002$).

Conclusión: La exposición repetida a radiación ionizante (radiografías periapicales) podría inducir daño genotóxico en células epiteliales de cavidad oral.

Palabras claves: Endodoncia, micronúcleos, actividad mutagénica, micronúcleos con defecto cromosómico, toxicología.

ABSTRACT

Introduction: Genetic damage is probably the most important cause for the development of degenerative anomalies and diseases, but few studies focus on measuring and evaluating the genotoxic effects of products that are of great utility in clinical practice, such as the case of x-rays.

Objective: To compare the presence of nuclear abnormalities in cells of the buccal mucosa of individuals under intraoral radiographic exposure.

Materials and methods: A group of 30 healthy individual, who needed root canal treatment were selected to the study. A total of five X rays were taken during each root canal. Cells samples were taken in buccal mucosa adjacent to the tooth, one before the root canal and the other 15 days post-treatment. Using an optical microscopy and Giemsa stain nuclear abnormalities such as: binucleation, pyknosis, karyorrhexis, karyolysis, and micronuclei were evaluated.

Results: Of the nuclear anomalies evaluated, karyorrhexis was present in 90% before and 96.7% after radiographic exposure; Followed by karyolysis in 76.7% and 73.3%, respectively. The presence of micronucleus before radiographic exposure was 53.3%, which increased significantly to 83.3% after radiation, which represents an increase of 36.7% ($p = 0.022$). This represents an average of 1.7 \pm 2.2 epithelial cells with micronucleus prior to exposure which increases to 4.4 \pm 4.6 cells with this post-intervention nuclear damage ($p = 0.002$).

Conclusion: Repeated exposure to ionizing radiation (periapical radiographs) may induce genotoxic damage in oral cavity epithelial cells.

Keywords: Endodontics, micronuclei, mutagenic activity, micronuclei with chromosomal defect, toxicology.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas la ciencia de la imagenología ha evolucionado en el ámbito de la atención odontológica, por lo cual la radiografía juega un papel muy importante generando un diagnóstico más certero así como durante la realización de un tratamiento endodóntico, debido a que se necesita en cada paso clínico una comprobación imagenológica que exija riqueza de información y detalles anatómicos del elemento a tratar y de su relación con estructuras vecinas que no son visibles al examen clínico (1-4).

Sin embargo se debe tener en consideración que este tipo de radiación ionizante tiene la capacidad de promover actividades nocivas tales como los daños genéticos, los cuales son probablemente el factor causal más importante para el desarrollo de anomalías y enfermedades degenerativas, los cuales pueden llevar a un proceso de carcinogénesis el cual se caracteriza por presentar cambios genéticos estimulando daños al DNA (ácido desoxirribonucleico) y entrecruzamiento del DNA con proteínas contribuyendo a la muerte celular, mutaciones genéticas y aberraciones cromosómicas (5, 6).

Aunque son pocos los estudios que se centran en medir y evaluar los efectos genotóxicos, existen diversos métodos que permiten determinar el potencial mutagénico de los diferentes productos que hoy en día alcanzan un mayor beneficio en la humanidad, especialmente a través de la identificación de micronúcleos; éstos están conformados por cromosomas enteros o fragmentos de cromátidas que no alcanzan a asociarse al huso mitótico y no se incluyen en el núcleo de las células hijas y permanecen en el citoplasma como microestructuras que son análogas al núcleo principal (7, 8).

Sin embargo, existe poca evidencia acerca de los efectos que producen las radiaciones ionizantes utilizadas en los tratamientos endodónticos convencionales, por lo cual el objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de micronúcleos en células de la mucosa oral de Individuos bajo exposición radiográfica oral.

METODOLOGÍA

Diseño y población de estudio.

Se realizó un estudio de intervención cuasiexperimental antes y después con un solo grupo de estudio. La población estuvo conformada por individuos que recibieron tratamiento endodóntico en la Clínica del Programa de Odontología de la Corporación Universitaria Rafael Núñez durante el primer y segundo periodo académico del año 2016.

Dentro de los criterios de inclusión se tuvieron en cuenta pacientes que autorizaron su participación voluntaria mediante firma de consentimiento

informado, se les haya realizado procedimiento endodóntico y que no hayan recibido radiaciones de cabeza o cuello los últimos tres meses previos al estudio.

Se excluyeron pacientes que padecieran algún tipo de síndrome, peligros mutagenicos no conectados con la ocupación (fumar, beber, drogas al consumo) y enfermedades relacionadas con cualquier daño genético, diabetes, anemia o cualquier enfermedad debilitante. Los sujetos fueron evaluados con un cuestionario para comprobar si se ajustan a los criterios de estudio.

La muestra consistió de 30 individuos a los que se le realizó tratamiento de conductos radiculares, a los cuales se les tomaron muestras de exfoliado celular de mucosa oral adyacente al diente tratado. Estas muestras se tomaron antes de iniciar el tratamiento y 15 días posteriores al procedimiento.

El tamaño de esta muestra se determinó mediante el software Epidat v4.0, teniendo en cuenta un error tipo I (error $\alpha=0.05$) del 5%, un poder estadístico del 80% (error $\beta=0.1$), un nivel de confianza del 95% y una diferencia esperada de micronúcleos post-exposición del 30%.

Toma de muestra y detección de micronúcleos.

Se calibró a un operador para la realización de recolección de muestras y demás procedimientos de laboratorio necesarios para la determinación de micronúcleos y otras aberraciones cromosomales presentes en cada una de las placas analizadas.

Se realizó una encuesta para verificar si los individuos cumplían con los criterios de selección para el estudio, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Una vez hecho esto, y posterior a la realización de un consentimiento informado, la recolección de muestras se realizó con cepillo citológico, tomando un frotis suave en la parte interior de los labios y/o mucosa oral adyacente al diente que se le realizó tratamiento de conducto radicular, el cual se expuso a 5 radiaciones correspondientes a las radiografías periapicales requeridas en el tratamiento endodóntico. Los citocepillos se embebieron en solución salina para que no se alterara el equilibrio osmótico de las células. Las muestras se rotularon en tubos para microcentrifuga de 1.5 mL y almacenándolas a -20°C hasta su posterior análisis.

Las muestras se transportaron al laboratorio del CEID (Centro Experimental de Investigaciones y Docencia de la Corporación Universitaria Rafael Núñez), para seguir con el procedimiento, donde cada cepillo citológico contenido en su respectivo eppendorf se retiró agitándolo en un Vórtex para liberar las células que se hayan adherido a las cerdas y llevado hasta un guardián como sitio de desecho, categorizado en residuos de riesgo biológico, cortopunzantes.

RESULTADOS

El material obtenido se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos, a temperatura ambiente, con microcentrifugadora y con una micropipeta se succionó la muestra centrifugada, obteniendo de esa forma una alta concentración de células y el sobrenadante se descartó en su respectivo eppendorf.

Posteriormente se transfirió el volumen de líquido obtenido hacia el portaobjeto rotulado con la identificación de cada paciente. Seguidamente se realizó el extendido de la muestra a través de un portaobjeto y se procedió a fijar la misma con calor, durante 3 segundos aproximadamente. Prontamente, se procedió a realizar la tinción con la técnica May Grünwald-Giemsa, reportada por Kashyap & Reddy (9), en la cual, a través de un gotero de laboratorio, se absorbió tinte Giemsa a una concentración de 5%, vertiéndolo gota a gota hasta cubrir la muestra en su totalidad y se esperó un tiempo de 10 minutos aproximadamente, aguardando el secado de la misma a temperatura ambiente.

Este tinte permitió observar el citoplasma de color rosa y el núcleo de color azul de 60 muestras, 30 antes y 30 después a la exposición de radiación, bajo la luz de un microscopio óptico, con un aumento de 40x para lograr una adecuada localización de las células.

Una vez hecho esto, se colocó una gota de aceite de inmersión tipo A sobre la muestra para visualizar las células con un aumento de 100x, eliminando la desviación de los rayos de luz y aumentando la eficacia del análisis de micronúcleos y atipias nucleares (binucleación, picnosis, cariólisis y cariorrexis), realizado por el personal calibrado para este tipo de procedimientos.

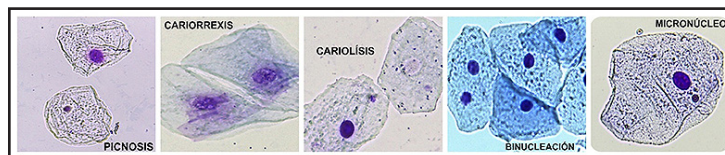
Análisis Estadístico

Dada la naturaleza de las variables y el tipo de estudio, el análisis estadístico consistió de un análisis descriptivo mediante el reporte de tablas de frecuencias para las variables cualitativas y parámetros de tendencia central y dispersión (Media \pm Desviación estándar) para las variables cuantitativas.

El análisis bivariado de los datos cuantitativos mediante la prueba de Friedman para k muestras relacionadas y la prueba de Wilcoxon para dos muestras relacionadas, debido a que las variables numéricas no contaron con una distribución normal de los datos, según lo demostró el test de Kolmogorov-Smirnov y comparación directa con el gráfico QQ.

En cuanto a los datos cualitativos, se contrastaron a partir de la comparación de proporciones de muestras relacionadas mediante el test de McNemar para datos pareados. Para todos los análisis se empleó el software estadístico SPSS v20 (IBM, USA). Como significancia se tuvo en cuenta valores de $p < 0.05$.

El presente estudio se comparó la presencia de micronúcleos en células epiteliales de mucosa bucal de pacientes los cuales fueron sometidos a 5 radiografías periapicales durante un tratamiento de conducto convencional. Se hizo una toma de muestras antes a la exposición y 15 días después, en la cual se encontraron características como binucleación, picnosis, cariólisis, cariorrexis y micronúcleos. (Figura 1)



Con respecto a la presencia de alteraciones nucleares después de la exposición a radiografías, se observa la presencia de células binucleadas en un 23,3%(n=7), la presencia de células con picnosis fue de un 3,3%(n=1), cariólisis se encontró un 73,3%(n=22) y cariorrexis de 96,7%(n=29) (tabla 1).

Tabla 1. Presencia de alteraciones nucleares según tiempo de medición.

		Antes		Después	
		n=30	%	n=30	%
Células Binucleadas	Ausente	22	73,3	23	76,7
	Presente	8	26,7	7	23,3
Células con Picnosis	Ausente	28	93,3	29	96,7
	Presente	2	6,7	1	3,3
Células con Cariólisis	Ausente	7	23,3	8	26,7
	Presente	23	76,7	22	73,3
Células con Cariorrexis	Ausente	3	10	1	3,3
	Presente	27	90	29	96,7

Posteriormente se observó la presencia de micronúcleos y si se presentaban con 1, 2, 3 o más micronúcleos en las muestras obteniendo que la presencia de células con micronúcleos fue de un 53,3%(n=16) antes de la exposición a los rayos X y 15 días después se observó un 83,3%(n=25).

La presencia de células con un micronúcleo fue de un 43,4%(n=13) antes de la exposición y posterior a esta fue de un 80%(n=24) (Tabla 2).

Tabla 2. Presencia de Micronúcleos según tiempo de medición.

		Antes		Después	
		n=30	%	n=30	%
Presencia de Micronúcleos	Ausente	14	46,7	5	16,7
	Presente	16	53,3	25	83,3
Un Micronúcleo	Ausente	17	56,7	6	20
	Presente	13	43,3	24	80
Dos Micronúcleos	Ausente	18	60	18	60
	Presente	12	40	12	40
≥ Tres Micronúcleos	Ausente	23	76,7	19	63,3
	Presente	7	23,3	11	36,7

En la tabla 3, la media o número de células promedio con micronúcleo es de $1,7 \pm 2,23$ en comparación a la medición después de la exposición de rayos X, la cual aumentó significativamente en promedio a $4,4 \pm 4,65$ ($p=0,002$). Se observa también que la media de las células con un micronúcleo es de $0,77 \pm 1,07$ en comparación a la media después de la exposición, en la cual se observó también un aumento significativo de $2,37 \pm 1,65$ ($p=0,00$).

Tabla 3. Descripción y comparación del número de alteraciones celulares.

	Media	DE	Media	DE	Valor de p χ
Nº Células Binucleadas	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Nº Células con Picnosis	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Nº Células con Cariolisis	3	3	3	3	3
Nº Células con Cariorexix	6,77	6,77	6,77	6,77	6,77
Nº Células con Micronúcleos	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Nº Células con 1 Micronúcleos	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Nº Células con 2 Micronúcleos	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57
Nº Células con ≥ 3 Micronúcleos	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37

¥: Test de Wilcoxon de rangos de muestras relacionadas
*: $p < 0,05$

En las tablas 4 y 5 se contrastaron las dos variables, el antes y el después, y se observó que el porcentaje de células con alteraciones nucleares, como lo son células binucleadas, células con picnosis, cariolisis y cariorexix, no mostraron un cambio significativo, mientras que con respecto a las células con micronúcleo se observó que el porcentaje

de células con micronúcleos fue de 6,7%(n=2), el cual aumentó significativamente a 36,7%(n=11) en la segunda medición, mostrando una diferencia estadísticamente significativa. Con respecto a las células con un micronúcleo, se muestra que el porcentaje fue de 10% (n=10), el cual también tuvo un aumento significativo del 46,7%(n=14). En las células con dos, tres o más micronúcleos no se observó un aumento significativo.

Tabla 4. Comparación de la presencia de alteraciones nucleares antes y después.

		Después				Valor de p χ	
		Ausente		Presente			
		n	%	n	%		
Antes	Células Binucleadas	Ausente	19	63,3	3	10	1,00
		Presente	4	13,3	4	13,3	
	Células con Picnosis	Ausente	27	90	1	3,3	1,00
		Presente	2	6,7	0	0,0	
	Células con Cariolisis	Ausente	1	3,3	5	20	1,00
		Presente	7	23,3	16	53,3	
Células con Cariorexix	Ausente	0	0,0	3	10	0,625	
	Presente	1	3,3	26	86,7		

Tabla 5. Comparación de la presencia de Micronúcleos antes y después.

		Después				Valor de p χ	
		Ausente		Presente			
		n	%	n	%		
Antes	Presencia de Micronúcleos	Ausente	3	10	11	36,7	0,022*
		Presente	2	6,7	14	46,7	
	Un Micronúcleo	Ausente	3	10	14	46,7	0,013*
		Presente	3	10	10	33,3	
	Dos Micronúcleos	Ausente	13	43,3	5	16,7	1,000
		Presente	5	16,7	7	23,3	
	≥ Tres Micronúcleos	Ausente	15	50,0	8	26,7	0,388
		Presente	4	13,3	3	10	

¥: Test de McNemar, comparación de proporciones de datos pareados.
*: $p < 0,05$

DISCUSIÓN

La exposición a la radiación puede influenciar en la aparición de alteraciones hematológicas, reproductivas, neoplásicas y citogenéticas. José M. Ceballos-Quintal concluyó en su estudio una diferencia significativa en análisis realizados a sujetos expuestos a radiación y sujetos sanos (10). Las diferencias encontradas permiten identificar un efecto citogenético temprano ocasionado por la exposición a rayos X, con incremento mayor correlacionado con la antigüedad de la exposición.

Westphalen y cols (2008) realizaron un estudio in vivo donde determinaron la genotoxicidad inducida por metales contenidos en los aparatos de ortodoncia a través de la determinación de la presencia de micronúcleos y concluyeron que el nivel de daño en el DNA fue baja antes del comienzo del tratamiento con aparatología ortodóncica y durante los diez días después de la colocación de la aparatología ortodóncica; en el que se observó un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos treinta días después del comienzo del tratamiento (11).

En el presente estudio se observaron células epiteliales en la mucosa oral de individuos que fueron sometidos a radiografías por tratamiento endodóntico. Se obtuvieron como resultados característicos como binucleación, picnosis, cariólisis, cariorrexis y micronúcleos. A diferencia del estudio realizado por Westphalen y colaboradores que realizaron el estudio con base a los efectos genotóxicos de los metales utilizados en los aparatos ortodónticos, pero obtuvieron resultados similares con respecto a la presencia de micronúcleos a cierto tiempo de la exposición del tejido al agente genotóxico.

Cequiera y cols realizaron un estudio en el cual tuvieron como objetivo evaluar los efectos genotóxicos de los rayos X en células epiteliales gingivales durante radiografías panorámicas, usando un estudio diferenciado para el test de micronúcleos (12). Se sometieron 40 individuos sanos a este procedimiento con fines diagnósticos a petición de sus dentistas, se obtuvieron células epiteliales gingivales de la mucosa queratinizada de la arcada dental superior inmediatamente antes de la exposición y diez días después. Las preparaciones citológicas fueron teñidas según la reacción Feulgen-Rossenbeck; se realizaron con un microscopio óptico. Como conclusión dio que estos resultados indican que la radiografía panorámica induce un efecto genotóxico en células epiteliales que aumenta la frecuencia del daño cromosómico. En el presente estudio no se realizaron sobre radiografías panorámicas y la tinción fue distinta, pero de la misma manera se observaron aberraciones cromosomales y presencia de micronúcleos, que ratifican que exponer a pacientes a radiografías puede ser causa de estas aberraciones.

Sheikh, S y col. realizaron otro estudio que tenía como objetivo buscar y evaluar los efectos genotóxicos de los rayos X en las células epiteliales gingivales y bucales durante la toma de radiografías panorámicas utilizando el test de micronúcleos. La muestra se tomó de ochenta sujetos sanos que requerían radiografía panorámica. La prueba se realizó inmediatamente antes de la exposición y nuevamente 10 días después de la exposición, obteniendo como resultado datos que no tuvieron diferencia estadísticamente significativa. Concluyendo así que, a pesar de los efectos relacionados con la radiación de la radiografía panorámica, se redujeron en comparación con toda la boca radiografías periapicales intraorales o radioterapia (13). En el presente trabajo, los datos sí presentaron diferencia estadísticamente significativa para la presencia de micronúcleos y más específicamente para la presencia de 1 y 3 micronúcleos.

CONCLUSIÓN

A partir de los hallazgos obtenidos en este trabajo, se concluye que la toma de radiografías periapicales durante el tratamiento endodóntico podría inducir daño genotóxico caracterizado por la aparición de micronúcleos en células epiteliales de la cavidad oral, lo que podría conllevar a un factor predisponente de cáncer oral. Sin embargo, estos resultados son preliminares y, por lo tanto, es necesario aumentar el número de muestras, además de tener en cuenta el grado de radiación recibido durante un procedimiento endodóntico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Llano-Robayo JA, Andrade-Aroca GS, Pavón-Granja MA, Miranda-Rosero MC, Jaramillo-Burneo JP, Espinoza-Torres EE. Prevalencia de dos conductos en incisivos inferiores permanentes mediante el uso de radiovisiografía. *Dominio de las Ciencias*. 2017;3(1):488-500.
2. Hernández AC, Salinas BAV, Delgado IR, Treviño JJF. Causas de retratamiento endodóntico. *Revista Mexicana de Estomatología*. 2017;3(2):3-14.
3. Deutsch AS. The Importance of Increasing the Success Rate. A Look at Procedures, Factors, and Clinical Practices. *Dent Today*. 2016;35(4):72, 4-5.
4. Ray-Chaudhuri A, Buth S, Briggs P. Technique tips--the importance of a bitewing radiograph in the endodontic assessment of posterior teeth. *Dent Update*. 2014;41(3):280-1.
5. Huang A, Glick SA. Genetic susceptibility to cutaneous radiation injury. *Arch Dermatol Res*. 2017;309(1):1-10.
6. Ortolan P, Zanato R, Coran A, Beltrame V, Stramare R. Role of Radiologic Imaging in Genetic and Acquired Neuromuscular Disorders. *Eur J Transl Myol*. 2015;25(2):5014.
7. Torres-Bugarín O, Ramos-Ibarra ML. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *International Journal of Morphology*. 2013;31(2):650-7.

Presencia de micronúcleos en mucosa oral de individuos post radiografías endodónticas.

8. Díaz Caballero A, Mora Solano E, Herrera Herrera A. Presencia de micronúcleos en células epiteliales de encías, como marcador de inestabilidad cromosomal: Revisión sistemática. Avances en Odontostomatología. 2013;29(2):95-102.
9. Kashyap B, Reddy PS. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. Journal of cancer research and therapeutics. 2012;8(2):184.
10. Ceballos-Quintal JM, Pinto-Escalante D, Canto-Herrera J. Incremento de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátides hermanas en personas sanas con exposición laboral a rayos X. Rev Biomed. 2002;13:76-82.
11. Westphalen G, Menezes L, Prá D, Garcia G, Schmitt V, Henriques J, 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.
12. Cerqueira EM, Meireles JR, Lopes MA, Junqueira VC, Gomes-Filho IS, Trindade S, et al. Genotoxic effects of X-rays on keratinized mucosa cells during panoramic dental radiography. Dentomaxillofac Radiol. 2008;37(7):398-403.
13. Sheikh S, Pallagatti S, Grewal H, Kalucha A, Kaur H. Genotoxicity of digital panoramic radiography on oral epithelial tissues. Quintessence International. 2012;43(8).

Autor de correspondencia:

Carlos Corrales Payares

e-mail: carlos.corrales@curnvirtual.edu.co

Los autores declaran no presentar conflicto de interés.

Recibido: 04/02/23

Aceptado: 20/03/29

Gengigel

ÁCIDO HIALURÓNICO

GEL TÓPICO DE ÁCIDO HIALURÓNICO PARA AFTAS Y HERIDAS EN LAS ENCÍAS



Libre de lidocaína y benzocaína

El ácido hialurónico de **GENGIGEL**[®] es de origen biotecnológico y tiene un efecto anti-inflamatorio, reparador y protector sobre la mucosa oral. Además, gracias a la fórmula de **GENGIGEL**[®], permanece en la zona dañada de forma prolongada y crea una capa protectora que actúa como barrera ante microorganismos y otras toxinas.

Alivia tu boca



Farmoquímica del Pacífico

www.gengigel.cl

+569 5811 7814

f g+ gengigel