



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología
"Dr. Keisaburo Miyata"

Proyecto Terminal

**"Detección de micronúcleos y anomalías nucleares en
células de la mucosa oral después de la colocación de
metálicas en niños"**

Que para obtener el Diploma de la Especialidad en
Odontopediatría.

Presenta la:

C. D. FATIMA PATONI HERNÁNDEZ

Director:

DRA. EN C.S. NORMA LETICIA ROBLES BERMEO

Asesor(es):

DRA. EN C.S EDITH LARA CARRILLO

DR. EN P.M.B. VÍCTOR HUGO TORAL RIZO

Toluca. Estado de México Noviembre 2019



Índice

I. Antecedentes	3
Coronas metálicas como restauraciones en dientes temporales	4
Indicaciones para la colocación de coronas metálicas preformadas	5
Biocompatibilidad de las coronas metálicas prefabricadas	6
Genotoxicidad	8
Características de la mucosa bucal	10
Epitelio	10
Ensayo de micronúcleos para medir daño genético	16
Otras anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa bucal	19
○ Células Binucleadas	20
○ Células con núcleo lobulado o prolongación nuclear	21
○ Células con núcleo picnótico	21
○ Células con núcleo donde la cromatina está condensada	22
○ Células con núcleo en cariorrexis o desintegración nuclear	22
○ Células con núcleos en cariólisis o disolución nuclear	23
II. Planteamiento del Problema	24
III. Justificación	25
IV. Hipótesis	
De Trabajo	26
Nula	
V. Objetivos	
General	27
Específicos	
VI. Material y Métodos	28
1. Diseño de estudio	28
2. Población y universo de estudio:	28

3. Muestreo	28
4. Criterios	28
Criterios inclusión	
Criterios exclusión	
Criterios eliminación	
5. Variables	29
Dependientes	
Independientes	
6. Metodología	32
Material	
Procedimiento	
Toma de la muestra	
Fijación	
Tinción Giemsa al 4%	
Análisis de laminillas	
7. Implicaciones bioéticas	37
8. Análisis estadístico	37
VII. Resultados	38
VIII. Discusión	45
IX. Conclusiones	47
X. Referencias Bibliográficas	48
XI. Anexos	53

I. Antecedentes

La caries dental se define como una enfermedad multifactorial que se caracteriza por desmineralización localizada y progresiva de las porciones inorgánicas del diente y el deterioro posterior de su parte orgánica.¹ Este proceso destructivo se origina por la acción de los microorganismos que forman parte de la biopeelícula y por el efecto enzimático que estos gérmenes ejercen sobre los carbohidratos fermentables generando la producción de ácido láctico y pirúvico seguida de la invasión bacteriana de los túbulos dentales. La lesión cariosa requiere un diente susceptible y un tiempo suficiente de exposición que permita la desmineralización del tejido duro del diente.^{2, 3}

Se considera un problema de salud pública a nivel mundial, afecta 90% de la población de América Latina. ⁴ Vilchis, Laura E. Rodríguez et al., (2008) reportaron en un estudio de Jardín de niños y cuatro escuelas primarias en Toluca y Metepec, en el Estado de México que el 74% de los sujetos presentaron caries dental, con 4.7 de las superficies cariadas en promedio en dentición temporal. ⁵

Teniendo en cuenta las características de estas lesiones y la morfología coronaria en dentición temporal, obligan al clínico a utilizar restauraciones que proporcionan resistencia, durabilidad.⁶

El tratamiento restaurador en dentición temporal tiene por objetivo reparar o limitar el daño producido por la caries, proteger y preservar la estructura dental, restablecer la función y la estética (en la medida de lo posible) y permitir una correcta higiene bucal.⁷

Para la elección del material de restauración en dentición primaria no solo se deben tomar en cuenta las consideraciones técnicas si no algunos factores como la edad, el riesgo de caries y la cooperación del niño.⁸

Coronas metálicas como restauraciones en dientes temporales

Las coronas de metálicas fueron introducidas en odontopediatría en 1950 por Humphry. Desde entonces han pasado a formar parte de las diferentes alternativas para restaurar dientes temporales.^{7, 9}

Son restauraciones extracoronales preformadas para la restauración de dientes muy deteriorados, molares primarios sometidos a tratamiento pulpar y dientes hipoplásicos primarios o permanentes, restauración de lesiones complejas, y pacientes con alto riesgo de caries. Constituyen el tratamiento de elección de las caries complejas, ofrecen retención y resistencia difícil de obtener con otro tipo de restauraciones. Protegen todo el molar en forma eficaz, evitando la aparición de nuevas caries en otras superficies.⁸

Las coronas son blandas y maleables, lo que facilita el recortado, si se precisa, y la adaptación. En el mercado se encuentran con el margen precontorneado y coronas con el margen no precontorneado. También hay coronas estéticas para molares temporales que son también de acero inoxidable, precontorneadas que se comercializan recubiertas de material acrílico, plástico, o porcelana.^{7, 10}

Composición:

Concentración	Metal	
77%	Níquel	(Ni)
15%	Cromo	(Cr)
7%	Hierro	(Fe)
1%	Otros metales ³	

Fuente: 3M™ ESPE™

Según la guía clínica de la AAPD las coronas de níquel cromo están recomendadas en aquellos dientes con tratamiento pulpar. Estas coronas, después de adaptarlas al diente son cementadas con un material biocompatible. Son restauraciones extremadamente duraderas, económicas si tenemos en cuenta la relación coste eficacia, y de cobertura total con indicaciones concretas

en dentición temporal. En el caso de cavidades conservadoras, con suficiente estructura remanente, la obturación con amalgama o resina estaría indicada en aquellos dientes cuyo tiempo de exfoliación sea inferior a dos años.¹¹

Indicaciones para la colocación de Coronas metálicas preformadas

1. Restauraciones en molares primarios con múltiples superficies comprometidas.
2. Restauraciones en molares primarios de niños con caries temprana de la infancia.
3. Restauraciones en molares primarios con terapia pulpar
4. Restauraciones en molares primarios con defectos de calcificación o alteraciones del desarrollo.
5. Restauraciones en molares primarios fracturados.
6. Como soporte para mantenedores de espacio cuando el diente pilar tiene comprometida su integridad.
7. En niños con facetas de desgaste amplias debido a bruxismo
8. Restauraciones provisionales en molares permanentes jóvenes con alteraciones de calcificación o defectos del desarrollo.
9. En pacientes especiales o muy pequeños que serán atendidos bajo sedación endovenosa o anestesia general.^{12,13}

Biocompatibilidad de las coronas metálicas prefabricadas

El concepto de biocompatibilidad de un metal, se relaciona con su capacidad de liberación iónica en un medio acuoso y la cavidad oral es particularmente adecuada para la biodegradación de metales debido a sus propiedades iónicas, térmicas, microbiológicas y enzimáticas.^{14,15} Estas condiciones, al promover la biodegradación conducen a efectos adversos a nivel local debido a que los iones de níquel son liberados, ocasionando desde reacciones alérgicas, genotoxicidad, citotoxicidad y bioacumulación.^{16,17}

Los mecanismos más frecuentes de reacciones adversas por los metales son:

- a) La corrosión, que depende de la presencia de oxígeno, cloruros y aleaciones de metales no nobles en la cavidad oral.
- b) Liberación gradual y continua de componentes iónicos de materiales dentales.

Estos componentes iónicos se absorben en el cuerpo humano, ya sea a través del sistema digestivo, la mucosa oral, la piel o las vías respiratorias. Los efectos carcinógenos principalmente del Ni se han demostrado a través de vías de exposición como la ingestión, la inhalación y la inyección parenteral de compuestos de Ni.^{18,19}

Estudios *in vivo* como el reportado por Zinelis et al. (2008), encontraron que hay liberación de elementos que componen las coronas de acero cromo, tanto en la parte interna del órgano dentario como en la cavidad oral, así como cambios morfológicos después de la exposición intraoral. En otro estudio *in vivo* realizado por Keinan et al. (2010), encontraron que elementos de las coronas de acero cromo, como hierro, cromo y níquel además de ser liberados son absorbidos en concentraciones 5 o 6 veces mayores que la encontrada en molares sanos.^{20, 21}

Estudios *in vitro* como el realizado por Menek et al. (2012), estudiaron la liberación de iones de níquel de las coronas de acero cromo en saliva artificial durante determinados días y a diferentes valores de pH. El estudio reveló que la liberación de los iones de níquel disminuyó conforme incrementaba el pH, concluyeron que las cantidades de iones metálicos liberados durante las condiciones

experimentales estuvieron muy por debajo del valor para inducir algún tipo de alergia y que los niveles de ingesta diaria de iones de níquel se da entre 600-2500mg y de 300 a 500mg respectivamente. Se encontraron únicamente 4mg/ml en la saliva artificial por lo que no debe preocupar durante la permanencia en boca de las coronas de acero cromo.²²

Los aparatos de ortodoncia pueden producir reacciones de hipersensibilidad, las coronas de acero cromo que contienen de 9-12% de níquel son similares en la composición a las bandas y alambres de ortodoncia, la biodegradación de estos aparatos se lleva a cabo durante el tratamiento, y pequeñas cantidades de iones metálicos que incluyen al níquel, son liberados en la cavidad bucal. Así como las coronas de acero cromo, los mantenedores de espacio son extensamente empleados en odontopediatría, por lo que Bhaskar et al. (2010) realizaron un estudio *in vitro* para analizar la biodegradación de los mantenedores de espacio se incubaron en saliva artificial a 37°C durante cuatro semanas y se analizó la liberación del níquel y cromo mostrando que los niveles de liberación de dichos elementos alcanzaron su máximo a los 7 días, no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la liberación de los elementos evaluados y los días de exposición, los valores estuvieron por debajo del promedio de la ingesta dietética, incluso si el mantenedor de espacio tenía cuatro bandas, este no era capaz de causar ningún tipo de toxicidad.²³

Hasta el momento no existen reportes en la literatura de alguna norma como ADA/ANSI o ISO que regule los componentes de las coronas de acero cromo y que garanticen la biocompatibilidad con el organismo y la cavidad bucal.²⁴

Debido a que las coronas de acero cromo preformadas se utilizan con frecuencia en la práctica clínica, hay preocupaciones acerca de la acumulación de componentes liberados de tales coronas y sobre todo el posible daño celular.²⁵

Genotoxicidad

La genotoxicidad, es la capacidad para causar daño al material genético por agentes físicos, químicos o biológicos; el daño en el material genético incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes celulares que se encuentran relacionados con la funcionalidad y comportamiento de los cromosomas dentro de la célula, tanto en células germinales como somáticas.^{26,27}

Las alteraciones de citotoxicidad y genotoxicidad celular que se han reportado para el níquel en algunos estudios han evaluado cambios en la respuesta a los aparatos de ortodoncia, encontrando daño del ADN en las células de la mucosa oral. Natarajan et al. (2011) determinaron el daño genotóxico de células de la mucosa bucal de pacientes con aparatología ortodóncica fija, concluyen que los iones níquel y cromo emitidos en cantidades suficientes inducen efectos genotóxicos localizados que se revierten cuando finaliza el tratamiento ortodóncico. Los aparatos ortodóncicos fijos disminuyen la viabilidad celular, inducen daño en el ADN, y aumentan los contenidos de níquel y cromo en las células de la mucosa bucal.^{28, 29}

Los iones metálicos como el níquel y el cobalto liberados de los aparatos ortodóncicos podrían inducir el daño del ADN en las células de la mucosa oral.³⁰

Lewinska et al. (2007). Evalúan el número de células micronucleadas en sujetos con dispositivos ortodóncicos mostrando aumentos dentro de los 30 días posteriores a la colocación de estos dispositivos. En este sentido, es importante señalar que no se han descrito ensayos que demuestren la genotoxicidad inducida por aparatos ortodóncicos.³¹

Por otro lado Morán Martínez et al. (2013) observaron que en 37 participantes la frecuencia de las células micronucleadas aumentó linealmente con la concentración de Ni excretada en la orina proporcionando evidencia de daño genotóxico inducido por iones metálicos 45 días después causado por la exposición a Ni en niños con coronas metálicas.¹⁸

Hiroe Kodaira et al. (2013) Examino la acumulación sistémica de metales pesados asociados a las coronas 3M preformadas con muestras de cabello de cuero cabelludo, no obteniendo diferencias estadísticamente significativas dado que los niveles de Fe, Cr y Ni estaban dentro de los rangos permitidos en todos los participantes. No obstante menciona que el número de coronas preformadas debe ser considerado.²⁵

Estos reportes, sugieren que el daño causado al ADN no es permanente debido a que se activan mecanismos para su reparación, y/o la eliminación de la fuente de genotoxicidad. Sin embargo, si el daño en el ADN persiste, dará lugar a inestabilidad genética y la célula se convierte en cancerosa debido a la acumulación de las mutaciones de la replicación del ADN dañado.³²

Coronas preformadas para la restauración de los dientes primarios se utilizan en diversos tratamientos. Debido a que se utilizan con frecuencia en la práctica clínica, hay preocupaciones acerca de la acumulación de componentes liberados de tales coronas.

Algunos metales pesados pueden causar graves daños al cuerpo humano cuando se absorbe y se acumula en grandes cantidades. Sin embargo, varios oligoelementos, incluyendo metales pesados, tienen un papel esencial en las funciones fisiológicas humanas. En particular, las anomalías en el metabolismo de los oligoelementos en los niños afectan diversas funciones relacionadas con el crecimiento y el desarrollo.

En cuanto a los componentes de las coronas preformadas, Fe es necesario para la síntesis de la hemoglobina en la sangre, y Cr está implicado en el metabolismo de los azúcares, lípidos, proteínas y tejidos conectivos. Ni, que se absorbe sólo en pequeñas cantidades en el intestino delgado, estabiliza el ácido ribonucleico (ARN), promueve la absorción de hierro y activa algunas enzimas. Mantener el equilibrio de elementos en el cuerpo es vital para el crecimiento y desarrollo de los niños.²⁵

Características de la mucosa bucal

La cavidad bucal está tapizada por una membrana mucosa de superficie húmeda, la estructura morfológica de la mucosa bucal varía por la adaptación funcional a la influencia mecánica que actúa sobre ella las diferentes regiones de la cavidad bucal. Se divide en tres tipos principales según sus criterios funcionales:

Mucosa de revestimiento: función de protección. El epitelio es de tipo no queratinizado, corion laxo o semilaxo y presenta una submucosa bien definida.

Es distensible y se adapta a la contracción y relajación de las mejillas, labios, lengua y a los movimientos durante la masticación. Está presente en la cara interna del labio, paladar blando, cara ventral de la lengua, mejillas y piso de boca.

Mucosa masticatoria: sometida directamente a las fuerzas internas y presión originadas por el impacto masticatorio. Suele estar fija al hueso y no experimenta estiramiento. Este tipo de mucosa corresponde la encía y el paladar duro. El epitelio es queratinizado o paraqueratinizado, corion semidenso o denso y carece de submucosa en la encía.

Mucosa especializada: aloja botones gustativos intraepiteliales, que tienen una función sensitiva destinada a la recepción de los estímulos gustativos. Está presente en la cara dorsal de la lengua.

La mucosa bucal está integrada por dos capas de tejidos estructural y embriológicamente diferentes: una capa superficial constituida por tejido epitelial y otra capa subyacente de tejido conectivo (lámina propia o corion). Ambas están conectadas por la membrana basal.^{27, 33}

Epitelio

El epitelio de la mucosa bucal es de tipo plano o estratificado.

Puede ser queratinizado, paraqueratinizado o no queratinizado; según la localización presenta diferencias estructurales y funcionales. Las células epiteliales están estrechamente unidas entre sí, de manera que forman una barrera funcional de protección entre el medio bucal y el tejido conectivo subyacente. (Fig. 1)

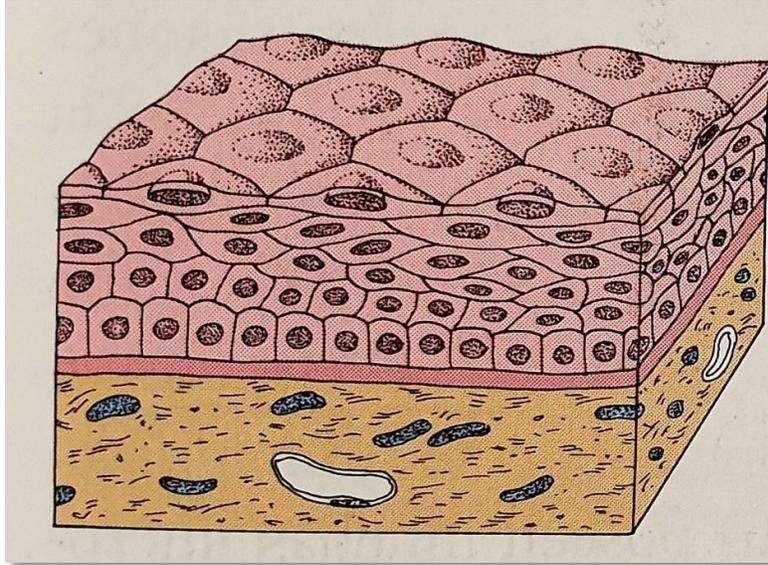


Figura.1 Epitelio plano estratificado

Fuente: Ross, M (2008). Epitelios de Revestimiento. Histología Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular

Epitelio plano estratificado queratinizado: constituido por dos tipos de poblaciones celulares: la población intrínseca, propia del epitelio, formada por los queratinocitos, que representan el 90% de la población celular, y la población extrínseca, de origen ajeno al epitelio, formada por una población de células permanentes o residentes que representan el 9% de la población celular del epitelio y una población transitoria que representa el 1%.

Los queratinocitos son las células del epitelio destinadas a queratinizarse, durante su evolución sufren una migración desde las capas más profundas hasta la superficie.

Luego de producida la mitosis pueden permanecer en la capa basal o dividirse nuevamente antes de emigrar hacia el exterior, se transforman en una célula especializada. Durante la citodiferenciación experimentan cambios bioquímicos y morfológicos para convertirse en una escama eosinófila queratinizada (anucleada) que más tarde se descama y cae al medio bucal³³.

Los queratinocitos que integran el epitelio bucal se disponen formando cuatro capas o estratos (fig.2):

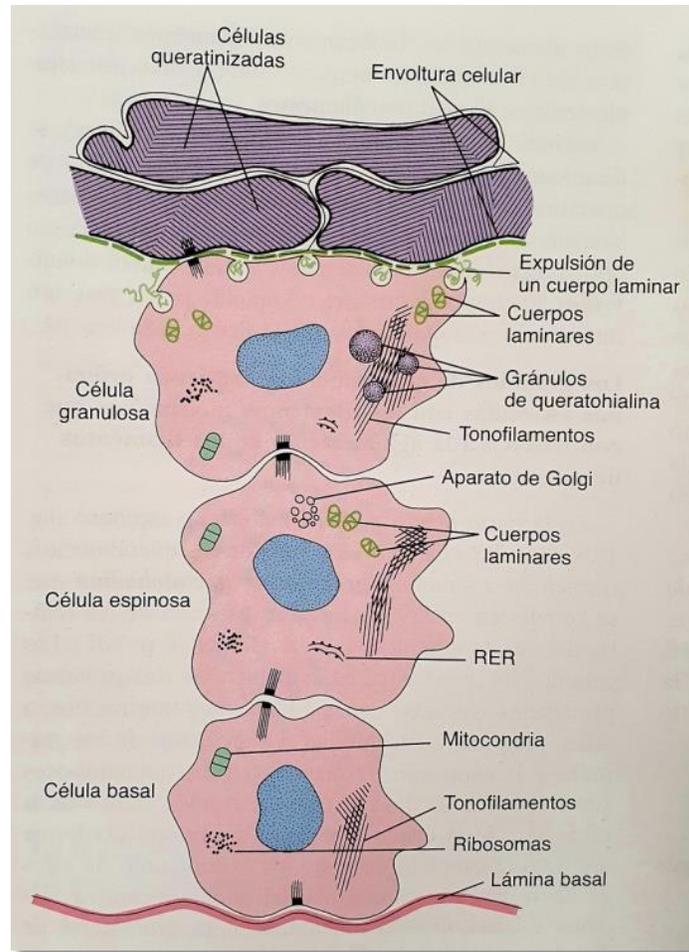


Figura 2. Diagrama esquemático de los estratos de los queratinocitos

Fuente: Ross, M (2008). *Diagrama esquemático de los queratinocitos en la epidermis. Histología Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular*

- Basal o germinativo:

Constituido por una capa única de células de forma cúbica o cilíndrica. Los queratinocitos son responsables de la formación de la lámina basal, que forma parte de la membrana basal. En este estrato se observan figuras mitóticas y comienza el proceso de renovación epitelial a partir de las células madres.

- Espinoso:

Formado por varias hileras de queratinocitos. Las células que lo constituyen son poligonales de núcleo redondo con citoplasma ligeramente basófilo, con hemidesmosomas más prominentes.

- Granuloso:

Constituido por dos o tres capas de células aplanadas o escamosas con un núcleo pequeño de cromatina densa. El citoplasma está lleno de gránulos de queratohialina intensamente basófilos. La capa de células granulosa es la zona en la que comienza la degeneración del núcleo y del resto de los orgánulos celulares.

- Córneo:

Se caracteriza por estar constituido por células planas, sin núcleo evidente y con citoplasma fuertemente acidófilo. Estas células reciben la denominación de corneocitos y no presentan gránulos de queratohialina. La membrana plasmática es más gruesa que en las células de las capas más profundas. Las uniones intercelulares se modifican, lo que facilita la descamación celular.³⁴

La población epitelial queratinocítica que reviste la mucosa bucal se renueva de forma permanente. Existe un equilibrio biológico entre las células que se descaman en la superficie y las que se forman por mitosis en la capa basal. Esta capacidad especial proliferativa permite a la población celular mantenerse constante. El ciclo de renovación dura aproximadamente de diez a catorce días. El número de unidades epiteliales proliferativas por milímetro cuadrado es aproximadamente de 1,40066.

La velocidad de sustitución, o el tiempo de renovación de las células de la población epitelial, está sometida a la influencia de distintos factores, hormonas, citoquinas que la inhiben, inflamación y grado de queratinización³³.

Se ha sugerido que el proceso final de diferenciación queratinocítica que conduce a la descamación es un proceso vinculado a la apoptosis o muerte celular programada de la línea queratinocítica.

Epitelio plano estratificado paraqueratinizado: presenta iguales características que el queratinizado a nivel de los estratos basal, espinoso y granuloso; este último poco desarrollado. Las diferencias se manifiestan en los elementos celulares del estrato córneo superficial, en este tipo de epitelio conservan sus núcleos y también

algunos organelos celulares parcialmente lisados, hasta que se descaman. Los núcleos son picnóticos con cromatina condensada. (fig. 3)

Epitelio plano estratificado no queratinizado: se diferencia del epitelio queratinizado principalmente porque no produce la capa superficial córnea y carece, además, del estrato granuloso.

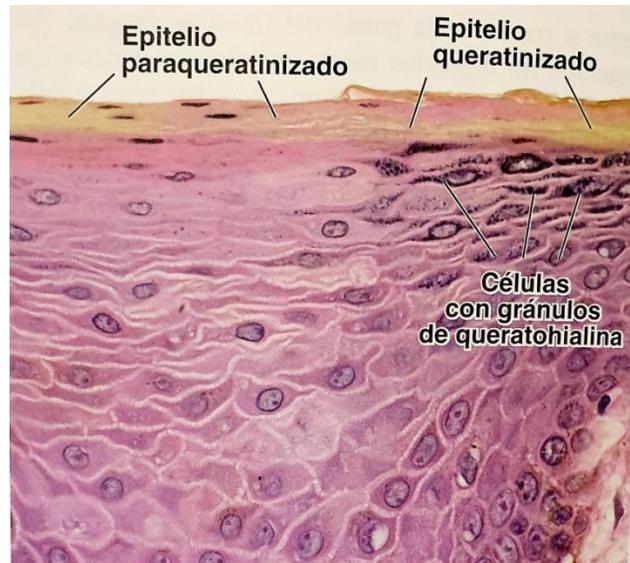


Figura 3. Se muestra una transición del epitelio estratificado plano queratinizado hacia un epitelio plano estratificado plano queratinizado. Las células superficiales aplanadas del epitelio queratinizado carecen de núcleos. Y se observa la capa de células que contienen granos de queratohialina. Las células superficiales aplanadas del epitelio paraqueratinizado tienen las mismas características excepto que retienen sus núcleos.

Fuente: Ross, M (2008). Epitelio estratificado plano del paladar duro. Histología Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular

El conocimiento de las distintas estructuras histológicas que constituyen la mucosa es de suma importancia para establecer el sustrato tisular en el que asientan las principales patologías que afectan a dicha región y de ese modo comprender su histogénesis para un mejor diagnóstico y tratamiento.

El epitelio de revestimiento, el tejido conectivo del corion y la submucosa, así como las estructuras vasculares y nerviosas de la mucosa y de los órganos de la cavidad bucal se alteran en numerosos procesos patológicos.

Los agentes físicos, bacterianos, micóticos y virales que originan las enfermedades de la mucosa bucal alteran la biología celular de los queratinocitos y muchas veces, provocan la degeneración y la muerte de éstos dando origen a la formación de vesículas.

La proliferación irreversible y autónoma de las poblaciones celulares del epitelio y del tejido conectivo conduce a neoplasias tumorales benignas y malignas. De hecho, la mucosa oral representa una barrera protectora para potenciales carcinógenos que, al ser metabolizados, generarían múltiples metabolitos reactivos; este tejido protege al resto del organismo de que estos compuestos penetren a otros órganos, sin embargo, al estar expuesta a estos agentes, la mucosa es susceptible de sufrir daño en el ADN, esta particularidad es de importancia debido a que el 95% de los cánceres de la cavidad bucal son carcinomas escamosos o epidermoides.

Aprovechando la propiedad descamativa de los epitelios estratificados ha surgido la citología exfoliativa, como un importante método auxiliar en el diagnóstico de ciertas enfermedades, tanto de naturaleza neoplásica como inflamatoria.

El citodiagnóstico se basa en el estudio de células que se descaman espontánea o artificialmente mediante la realización de un extendido.

Las células normales exfoliadas de la cavidad bucal provenientes del epitelio que la tapiza, son fáciles de reconocer y presentan escasas variantes condicionales a la zona de donde se descaman.^{27, 33}

Ensayo de micronúcleos para medir daño genético

El uso de la técnica del recuento de micronúcleos como medida de daño cromosómico sobre cultivos de linfocitos humanos fue propuesto por primera vez por Countryman y Heddle en 1976, cuyo único requisito era la elección de tipos celulares con gran actividad mitótica. En 1985, el ensayo de genotoxicidad fue mejorado por Fenech y Morley, consiguiendo frenar el proceso de división celular cuando la célula sólo hubiese sufrido una división mitótica. En 1999 la técnica del ensayo de MN fue validada a nivel mundial y considerada como un biomarcador efectivo de daño en el ADN.³⁵

La prueba de micronúcleos de células exfoliadas en tejido epitelial se ha utilizado para evaluar los efectos genotóxicos producidos por dosis bajas de sustancias carcinógenas a las poblaciones humanas expuestas. Se utiliza como un "dosímetro endógeno" en tejidos que son blancos específicos de carcinógenos genotóxicos, donde los carcinomas pueden desarrollarse. Es ampliamente utilizado porque es práctico, rápido, económico y mide el daño irreversible a nivel de la cromatina nuclear, por lo que en odontología se considera útil para medir el daño genotóxico causado por las aleaciones metálicas.¹⁸

Durante la división celular el material genético (ADN) contenido en el núcleo celular se replica y divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas; este proceso puede producirse de manera errónea debido a errores durante la replicación y posterior división del ADN, a roturas cromosómicas y al efecto de la radiación y de sustancias genotóxicas, produciéndose pérdida cromosómica y haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo. (fig. 4) Cuando esto ocurre, el material genético que se desprende y que, por tanto, queda excluido y no se incorpora correctamente al núcleo de la célula hija, origina un nuevo núcleo de menor tamaño que el primario denominado "micronúcleo" (MN), visible fácilmente al microscopio óptico. El material genético desprendido puede derivar de cromosomas enteros o, más frecuentemente, de fragmentos cromosómicos acéntricos que quedan excluidos de los núcleos de las nuevas células durante anafase mitótica.^{35,36, 37, 38, 39}

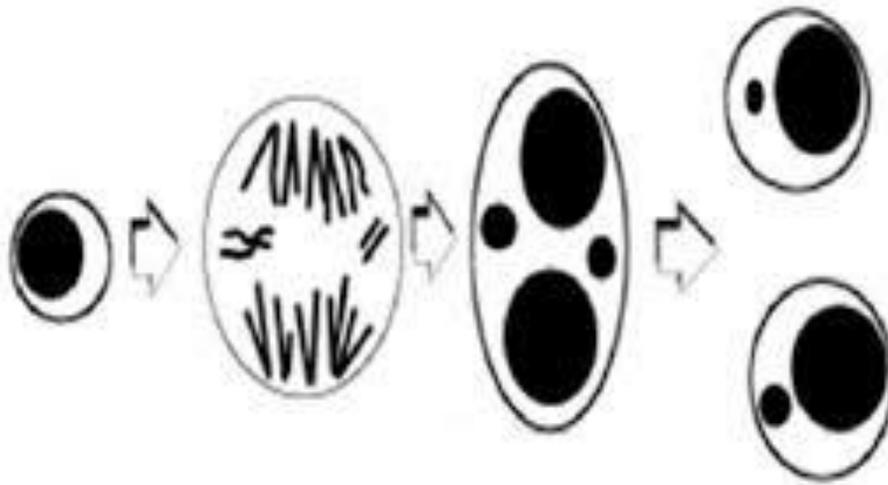


Figura 4. Formación de micronúcleos debido a la pérdida de un cromosoma entero y a fragmentos cromosómicos en anafase mitótica.

Fuente: Fenech, M., et al. (1999). El Proyecto HUMAN MicroNucleus: un estudio colaborativo internacional sobre el uso de la técnica de micronúcleos para medir el daño del ADN en humanos. Investigación de mutaciones.

El conteo de los micronúcleos se puede llevar a cabo en cualquier tejido que se divida, como en el epitelio de mucosa bucal que es un epitelio escamoso estratificado no queratinizado y cuenta con una capacidad especial proliferativa, lo que permite que la población celular se mantenga constante, razón por la que se vuelve vulnerable a lesiones producidas en el ADN.

De las células exfoliadas del tejido epitelial en la capa basal que es donde se lleva a cabo la división celular se observan los micronúcleos que son núcleos pequeños que se ubican al lado del núcleo celular indicando algún tipo de aberración cromosómica; éstas migran a la superficie en el transcurso de 5 a 14 días, así nos permite monitorear eventos genotóxicos tempranos (fig. 5).^{37, 39, 40}

Las mayores limitaciones que tienen como marcadores de efecto son que no caracterizan la naturaleza del daño nuclear inducido y que existe una considerable variación intra e interindividual.^{39, 40}

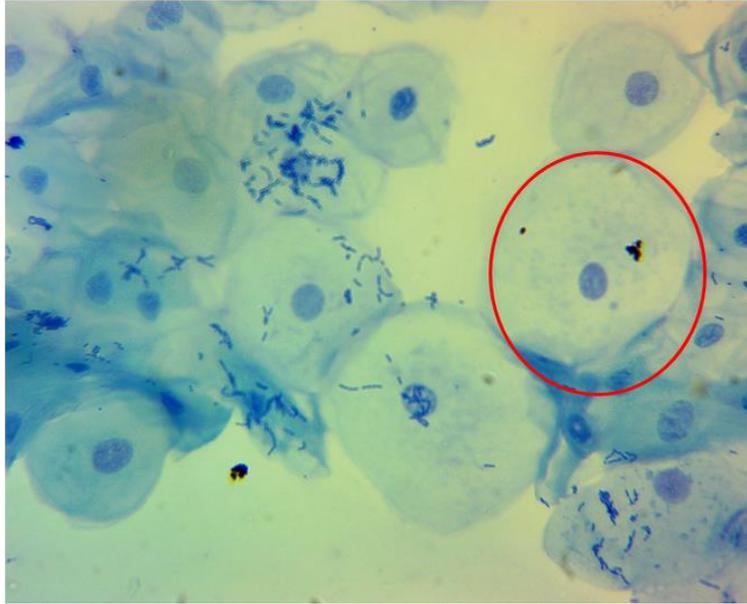


Figura 5. Presencia de micronúcleo en célula escamada de la mucosa yugal.

Otras anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa bucal

Existen otras anomalías nucleares en las células, que también son indicadores de genotoxicidad y citotoxicidad, ya que las alteraciones más sugestivas en la morfología de las células neoplásicas se producen en el núcleo, donde las modificaciones son en el tamaño, densidad y distribución de la cromatina, además son fenómenos que podrían ocurrir en procesos normales de diferenciación celular y que constituyen una limitación de la evaluación de los micronúcleos ya que pueden dificultar el reconocimiento de micronúcleos verdaderos. Estas anomalías corresponden a diferentes procesos biológicos se pueden distinguir de células normales por sus alteraciones ya sea en el citoplasma o en la morfología del núcleo, entonces entre ellas se encuentran la cromatina condensada (CC), cariorrexis (CR), núcleo picnótico (NP), cariólisis (CL), núcleo lobulado o prolongación nuclear (BE-NL), y la presencia de células con dos núcleos, llamadas células binucleadas (BN).³⁷

El mecanismo de formación o su significado biológico de cada una de estas anomalías no está bien esclarecido, bajo condiciones patológicas (obesidad, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, anemia linfocítica, anemia trombocitopénica, púrpura trombocitopénica idiopática, cáncer como linfoma Inmunoblástico, leucemia aguda megaloblástica, linfoma Hodgkin, leucemia granulocítica crónica, mieloma múltiple, leucemia linfocítica aguda, entre otras) o de exposición (tabaco, alcohol, drogas, quimioterapia antineoplásica) se observan altas frecuencias en la formación tanto de MN como de anomalías nucleares, hecho que podría ser utilizado como marcador de radiosensibilidad, además también se observan en procesos de envejecimiento, los MN, NL y las BN están elevadas tanto en pacientes con síndrome de Down como en pacientes de edad avanzada (64-75 años de edad).

Por estas características, la prueba de identificación de anomalías nucleares es usada con mucha frecuencia como marcador de daño al ADN (MN y NL), defectos en la citocinesis (BN), evidencia de muerte celular (CC, CR, PN, y CL),

indicadores de distintas etapas de necrosis, (PN, CC, CR, CL), como un identificador de respuesta al daño celular (PN y CC).³⁷

Las anomalías más frecuentes en las células exfoliadas son:

Células binucleadas (BN):

Con presencia de dos núcleos dentro de la célula. Probablemente no involucra una interacción directa con el ADN, usualmente los núcleos están muy próximos e incluso podrían hacer contacto, con morfología similar a un núcleo normal. Son producidas a causa de procesos de interferencia que ocurren tarde en la división celular. No se conoce bien su origen, ni su efecto en la célula pero se piensa que es un evento que tiene lugar en dos etapas, primero ocurre la mitosis que dará origen a dos núcleos pero el citoplasma no se divide, en consecuencia, se forman una célula binucleada, misma que será eliminada si pertenece a un epitelio de revestimiento, pero si este fenómeno ocurre en una célula del epitelio basal o pertenece a otro tejido entonces ambos núcleos de la célula binucleada entrarán en mitosis al mismo tiempo, los cromosomas de ambos núcleos quedarán incluidos en el mismo huso y son arrastrados juntos, en el momento de que la mitosis es completada habrá dos células con doble material genético cada una o bien una célula tetraploide, si se repite la interrupción de la citocinesis.(Fig. 6)

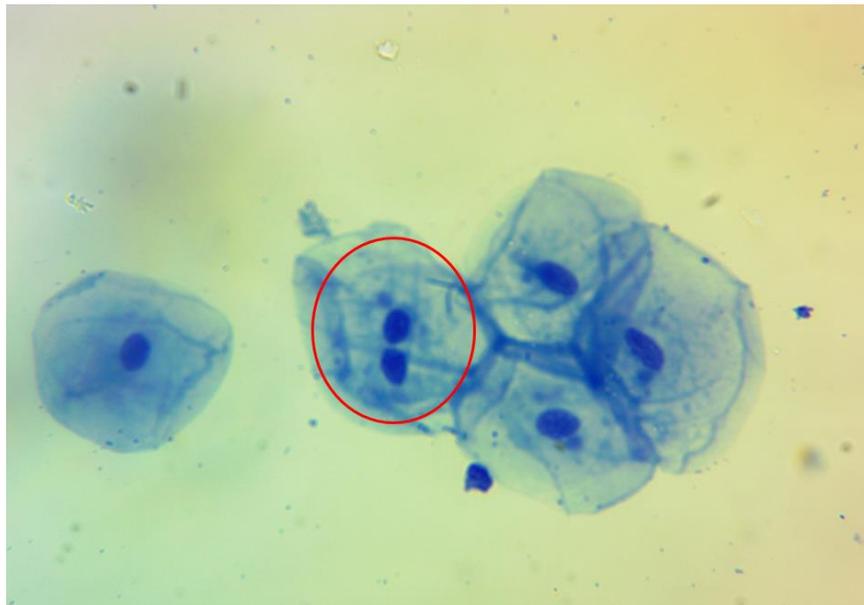


Figura 6. Célula binucleada, teñida con giemsa al 4%.

Células con núcleo lobulado o prolongación nuclear (BE-NL):

Donde el núcleo presenta fuerte constricción en un extremo, sugestivos de un incipiente 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. Se describen estos fenómenos como gemaciones de material nuclear muy próximas al núcleo sin una separación clara de este. Su origen y significado aún se desconoce. Algunos investigadores los consideran en linfocitos como indicadores de genotoxicidad, sin embargo en células exfoliadas no es claro ya que frecuentemente en diversos procesos de salud y enfermedad aparece en mayor frecuencia las células micronucleadas y las prolongaciones nucleares muy disminuidos o viceversa, por lo tanto se puede asumir que los BE-NL no están asociados a eventos genotóxicos, pero tal vez si a procesos degenerativas en la primera capa de células epiteliales, (estrato germinativo).

Células con núcleo picnótico (NP):

Donde este se observa pequeño, con alta densidad de material nuclear que es uniforme, pero intensamente teñido. El diámetro del núcleo es aproximadamente de $1/3$ del núcleo normal. Se piensa que estas células son una forma de muerte celular; sin embargo el mecanismo preciso sigue siendo desconocido. Se correlaciona con diferenciación y maduración de las células epiteliales. En altos niveles es una respuesta de lesión o daño celular. (fig. 7)

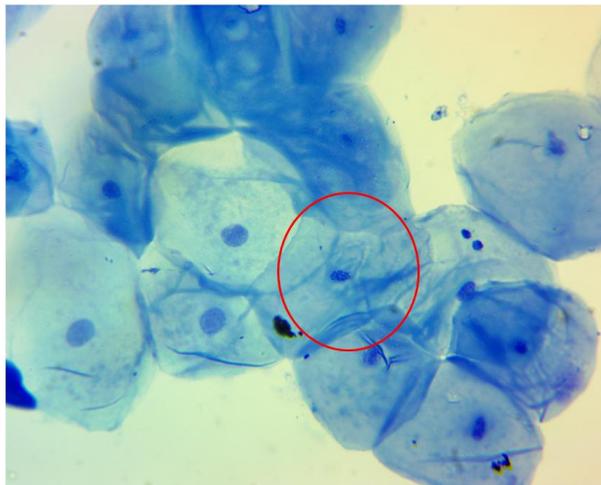


Figura 7. Se observa un núcleo picnótico, intensamente teñido y de diámetro $1/3$ menor al normal.

Células con núcleo donde la cromatina está condensada (CC):

Estas células tienen núcleos intensamente teñidos, con regiones condensadas o cromatina agregada, con un patrón nuclear moteado o estriado, donde la cromatina está agregando en algunas regiones del núcleo, mientras que se pierde en otras áreas, y algo característico es que la membrana nuclear aparentemente está intacta. Cuando la condensación es extensa da la apariencia de un núcleo fragmentado, estas células al igual que las células en cariorexis terminan con la fragmentación del núcleo, lo que conlleva la desintegración eventual y algunas veces aparecen como estructuras similares a los MN, pero estas no deben de ser contabilizados como MN ya que su origen aun no es determinado, tal vez están en etapas tempranas de la apoptosis, pero no es concluyente. (Fig.8).

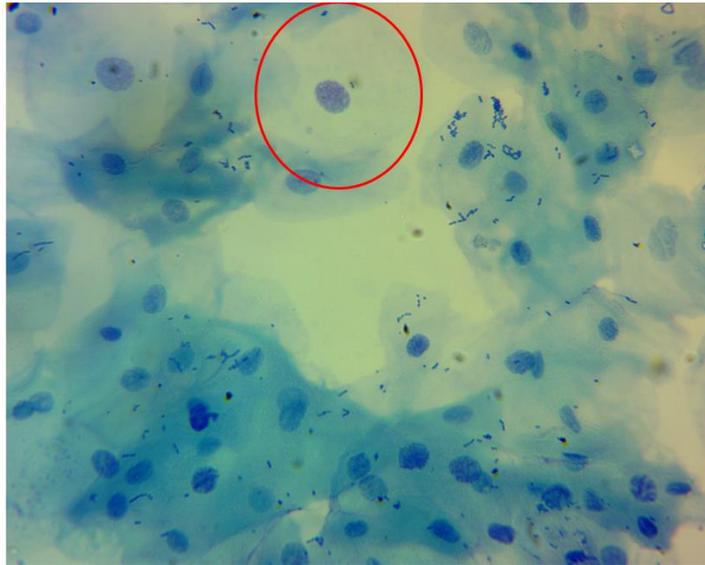


Figura 8. Cromatina condensada, se aprecia un patrón moteado donde la cromatina se agrega algunas regiones del núcleo.

Células con núcleo en cariorexis o desintegración nuclear (CR):

Donde la membrana nuclear desaparece o esta fracturada y la cromatina se observa condensada en grupos. Estas células tal vez están pasando por una fase avanzada de apoptosis pero esto no ha sido probado. (Fig.9)

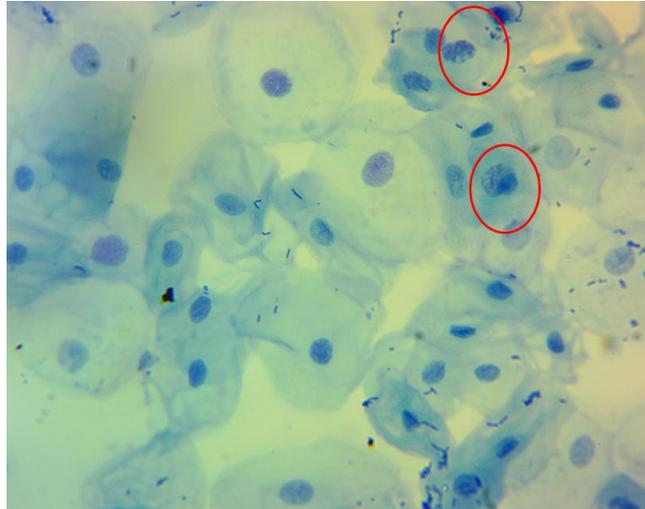


Figura 9. Células con núcleos con cariorrexis, la membrana celular tiene perdida de continuidad.

Células con núcleos en cariólisis o disolución nuclear (CL):

En estas células el núcleo está completamente vacío de ADN y por lo tanto no tienen núcleo, es probable que representen una fase muy avanzada en el proceso de muerte celular. La correlación positiva entre células picnóticas y células con cariólisis sugiere que las células con cariólisis derivan directamente a partir de células con cromatina condensada o indirectamente a través de células picnóticas. (Fig 10)^{37,39}.

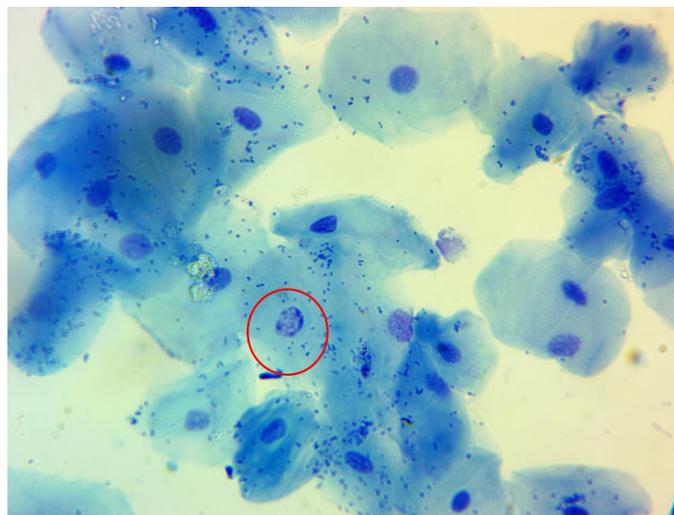


Figura 10. Cariólisis, núcleo con ausencia de ADN.

II. Planteamiento del Problema

La caries dental, es el resultado acumulativo de un desequilibrio en el proceso dinámico de desmineralización y remineralización que causa una pérdida neta de minerales a lo largo del tiempo siendo la principal causa de consulta en la Clínica de la especialidad de Odontopediatría en la Facultad de odontología de la UAEM, el alto índice de caries, las características de estas lesiones y la morfología coronaria de dentición temporal, obligan al clínico a utilizar restauraciones extensas que proporcionan, resistencia, durabilidad, biocompatibilidad y bajo costo. Las coronas preformadas de níquel cromo están dentro de las restauraciones más usadas desde 1950.

Recientemente estudios se contraponen al determinar si la colocación de coronas produce daño al ADN o no. Se ha sugerido que la acumulación de oligoelementos liberados de las coronas preformadas utilizadas en la restauración de los dientes no afecta al cuerpo, pero el número de coronas preformadas utilizadas en la restauración de los dientes primarios y la duración del uso deben ser considerados.(Hiroe Kodaira,et al. 2013). Por otro lado Moran Martínez et al. Reporta evidencia de daño genotóxico 45 días después de la exposición a níquel en niños con coronas metálicas.

En este sentido los niños se vuelven los más vulnerables debido a su constante crecimiento y desarrollo en el que se encuentran. La importancia de detectar el posible daño al ADN que generan las coronas preformadas es su acción mutagénica. Es por esto que se necesitan más estudios encaminados identificar las consecuencias que pueden producir las coronas en los niños con la finalidad de buscar mejores alternativas restaurativas y reducir los efectos dañinos sobre su salud. La técnica de micronúcleos y alteraciones nucleares, constituye uno de los biomarcadores de efecto más utilizados para monitorear el daño al ADN, es fiable, no es invasiva y se puede aplicar en células de mucosa bucal facilitando conocer los efectos tempranos de estos agentes tóxicos a nivel genético

Motivo por el cual surge la pregunta de investigación: ¿Qué alteraciones celulares existen después de la colocación de coronas acero cromo en niños?

III. Justificación

Las coronas preformadas se utilizan para restaurar los dientes primarios en diversos tratamientos en odontología clínica; para restaurar los molares primarios con caries extensas que impliquen 2 o más superficies dentales, terapia pulpar previa, pérdida de contacto interproximal, cambios en las dimensiones mesiodistal y bucolingual, en defectos estructurales como hipoplasia del esmalte, hipocalcificación, amelogénesis imperfecta o dentinogénesis imperfecta que no pudieran ser restaurados adecuadamente con técnicas convencionales. Su uso en dientes temporales reduce el tiempo de tratamiento y el número de visitas a las clínicas.

Debido a que se utilizan con frecuencia en la práctica clínica, es importante estudiar su posible daño celular

Las pruebas de genotoxicidad permiten evaluar tanto la exposición a sustancias genotóxicas como el riesgo de carcinogénesis. Un sistema que puede ser utilizado para el estudio de efectos genotóxicos es el ensayo de micronúcleos y alteraciones nucleares, es uno de los biomarcadores más usados debido a que es un método no invasivo ya que estas alteraciones se pueden observar en células descamadas del epitelio bucal; es fácil de realizar y de bajo costo. La importancia que tiene el localizar y cuantificar las alteraciones cromosómicas, es muy útil para descubrir efectos tempranos de daño genotóxico que pueden ser precursores de alguna otra alteración, y así, convertirse en una herramienta efectiva no sólo para la evaluación del riesgo, sino también para su predicción provenientes de la exposición.

IV. Hipótesis

Hipótesis de Trabajo

La presencia de coronas metálicas preformadas en boca es determinante para la presencia de micronúcleos y otras alteraciones celulares en la mucosa oral en niños.

Hipótesis Nula

La presencia de coronas metálicas preformadas en boca no es determinante para la presencia de micronúcleos y otras alteraciones celulares en la mucosa oral en niños.

V. Objetivos

General

Detectar la presencia de micronúcleos y otras las anomalías nucleares después de la colocación de coronas en niños que acuden a la clínica de la especialidad de Odontopediatría en la UAEM

Específicos

- Realizar el conteo de Micronúcleos en las muestras tomadas de la mucosa yugal de los pacientes con coronas preformadas.
- Observar y analizar las demás alteraciones celulares que se encuentren en las muestras de la mucosa yugal de los pacientes con coronas preformadas.
- Asociar los micronúcleos y alteraciones celulares con el número de coronas metálicas preformadas colocadas en los pacientes.

VI. Material y Métodos

1. Diseño de estudio

Estudio observacional, analítico, descriptivo, longitudinal, prospectivo

2. Población y universo de estudio:

Pacientes de la clínica de la Especialidad de Odontopediatría de la UAEMéx.

3. Muestreo

Se seleccionaron 10 Pacientes que iniciaron su rehabilitación oral acudiendo a la clínica de la especialidad e Odontopediatría bajo los siguientes criterios.

4. Criterios:

Criterios de Inclusión

- Pacientes entre 3 y 9 años de edad que acuden a clínica de la Especialidad de Odontopediatría de la UAEMéx.
- Pacientes aparentemente sanos
- Pacientes con conducta Fk3-Fk4
- Pacientes que no tengan ninguna restauración metálica en boca (amalgamas, coronas, aparatos ortodoncicos u ortopédicos)
- Pacientes que dentro de su rehabilitación necesiten 1 o más coronas preformadas de Acero-Cromo 3M en dientes severamente cariados.
- Pacientes donde los tutores autoricen la participación en el estudio y firmen el consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- Pacientes con alguna enfermedad sistémica y/o sindrómica que altere las condiciones orales normales.
- Pacientes fuera del rango de edad 3-9 años
- Pacientes con restauraciones metálicas previas
- Pacientes con conducta Fk1 Fk2
- Pacientes a los que se le coloquen otro tipo de restauraciones metálicas o coronas de otra casa comercial.
- Pacientes donde los tutores no autoricen la participación en el estudio y firmen el consentimiento informado.

Criterios de eliminación

- Pacientes en donde la corona se cayó o se retiró de boca por cualquier motivo durante los 1 a 15 días de exposición
- Si el muestreo de las células epiteliales orales se tomó fuera de los días de los puntos de tiempo programados (1 y 15 días después de la colocación de corona)
- Si al conteo de los micronúcleos la muestra es insuficiente.
(Extendidos celulares con menos de 1000 células)
- Niños con antecedentes de consumo de medicamentos en el mes de la toma de la muestra.

5. Variables

Variable dependiente (Tabla 1)

- Micronúcleos y anomalías nucleares

Variable independiente (Tabla 2)

- Edad
- Sexo
- Grado de caries por profundidad
- Coronas preformadas colocadas
- Higiene oral del niño (índice O' leary)

Tabla I.- Variables dependientes

Variable Dependiente	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Micronúcleos	Daño genético en los núcleos de las células	Conteo de micronúcleos	Cuantitativa Discreta	Número Total de micronúcleos
Anormalidades nucleares	<p>Célula binucleada: células que contienen dos núcleos principales.</p> <p>Picnosis: células con un núcleo pequeño, con alta densidad de material nuclear uniforme e intensamente teñido.</p> <p>Cariorrexis: células que presentan un núcleo que se caracteriza por agregación de la cromatina nuclear.</p> <p>Cariolisis vacías de ADN, por lo tanto, no tienen núcleo.</p>	Conteo de anomalías nucleares	Cuantitativa Discreta	Número Total de anomalías nucleares

Tabla 2. Variables independientes

Variable Independiente	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.	Número de años con meses cumplidos	Cuantitativa Continua	1.1, 1.2, 1.3, etc.
Sexo	Conjunto de los individuos que comparten la misma condición orgánica		Cualitativa Nominal	Masculino Femenino
Grado de caries por profundidad	<p>Grado 1: Asintomática Se limita a esmalte.</p> <p>Grado 2: Abarca esmalte y dentina</p> <p>Grado 3: Involucra a la pulpa y se caracteriza por dolor espontaneo y provocado La pulpa está parcialmente vital.</p> <p>Grado 4: La pulpa esta necrótica</p>	Inspección oral con explorador	Cualitativa Ordinal	Grado 1 Grado 2 Grado 3 Grado 4
Coronas preformadas colocadas	Numero de coronas preformadas de acero cromo colocadas en la boca del niño	Conteo de coronas en boca	Cuantitativa Discreta	Número total de coronas colocadas en boca
Higiene bucal	Habito que por medio del cepillado se elimina la PDB previniendo caries y enfermedad periodontal	Índice O'Leary	Cualitativa Nominal	Buena higiene menos de 15% de PDB Mala higiene más de 15% de PDB

6. Metodología

Material

- Bata blanca
- 1 galón de agua purificada
- 100 vasos de plástico
- 1 caja de guantes de látex
- 1 caja de cubre bocas
- 2 cajas de laminillas bordes esmerilados
- 1 caja de cubreobjetos 22 x 30 mm
- 1 lápiz No. 2 ½
- 1 Soplete
- 1 lata de Gas butano
- 1 Caja transportadora de laminillas
- 1 litro de agua destilada
- 1 vaso de precipitado 1000 ml
- Campos desechables
- 1 Pipeta graduada de 10ml
- Colorante Giemsa concentrado 1l
- 200ml de Xilol
- Alcohol absoluto
- 2 recipientes de vidrio
- Resina para montaje de cubreobjetos
- Microscopio digital Omax 40x-2000x con sistema de imágenes digitales USB 1.3MP (1280x1024 píxeles)
- Laptop con Microsoft Excel

Procedimiento

Procedimiento de técnica de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa bucal

Para la participación en el estudio, los padres de los pacientes recibieron una explicación clara sobre los objetivos del estudio, el riesgo, los beneficios y su participación voluntaria.

Se les dio un formato donde describe brevemente el estudio (Anexo1) y posteriormente se pedirá firmar un consentimiento informado por escrito (Anexo 2)

Toma de muestra.

Para la evaluación de la genotoxicidad en células epiteliales exfoliadas cada participante se enjuaga suavemente la boca con agua potable con la finalidad de remover cualquier resto de comida o artificios que interfieran con el análisis de la muestra. (Fig.11)



Figura 11. Paciente realizando el enjuague con agua previo a la toma de la muestra.

La laminilla de bordes esmerilados fue rotulada con un lápiz de grafito de No. 2 ½ con la siguiente información:

- Nombre del paciente
- Fecha de toma de la muestra
- Derecho o Izquierdo (Del carrillo donde se tomara la muestra)
- Numero 1 o 2 respectivamente para indicar si es;
 - Muestra basal antes de la colocación de coronas (1)
 - Muestra a los 15 días después de la colocación de coronas (2)

Se realizaron los extendidos sobre portaobjetos libres de polvo o grasa

La muestra de mucosa oral se tomó con una laminilla de bordes esmerilados mediante un barrido de atrás hacia adelante en la mucosa yugal del paciente, y con un segundo portaobjetos se realizó el extendido de las células.

Se realizaron dos frotis uno por mejilla. (fig. 12)



Figura 12. Toma de muestra de la mucosa yugal con laminilla de bordes esmerilados.

Fijación. Los frotis se fijaron con un mechero- soplete. La flama pasó a 15 cm de la parte posterior de laminillas de una sola intención sin prolongar ni detenerse en ningún momento para no intervenir en el tiempo de secado.

Para su posterior tinción se almacenaron en cajas transportadoras para evitar su contaminación, en una bitácora de laboratorio se registró cada código de los pacientes.

Tinción Giemsa al 4%

Se colocaron 4ml de Giemsa colorante concentrado por 96ml de agua destilada. Para obtener 100ml de Giemsa al 4%. (fig. 13)



Figura 13. Preparación del colorante Giemsa al 4%

Procedimiento de tinción de las laminillas

1. Lavar las laminillas sumergiéndolas en agua destilada por 2 minutos. (fig. 14a)
2. Escurrir el exceso de agua y secar la parte inferior de la laminilla
3. Colocar el colorante Giemsa al 4% con una pipeta cubriendo toda la superficie de la laminilla evitando burbujas por 15 minutos. (Fig. 14b)
4. Escurrir el exceso de la tinción y secar la parte inferior de la lamilla.
5. Sumergir en alcohol absoluto de forma rápida dos veces la laminilla.
6. Escurrir y secar el exceso de alcohol
7. Sumergir en Xilol 2 veces lo más breve posible, ayudándose de una pinza de curación. En la segunda inmersión se debe solo secar la parte inferior de la laminilla evitando sacudirla
8. Colocar 3 gotas de resina con una pipeta sobre la laminilla para el posterior montaje con el cubreobjetos previamente limpiado con un pañuelo, colocándolo empezando de un borde hacia adentro.
9. Se dejan secar 12 horas para su posterior análisis.

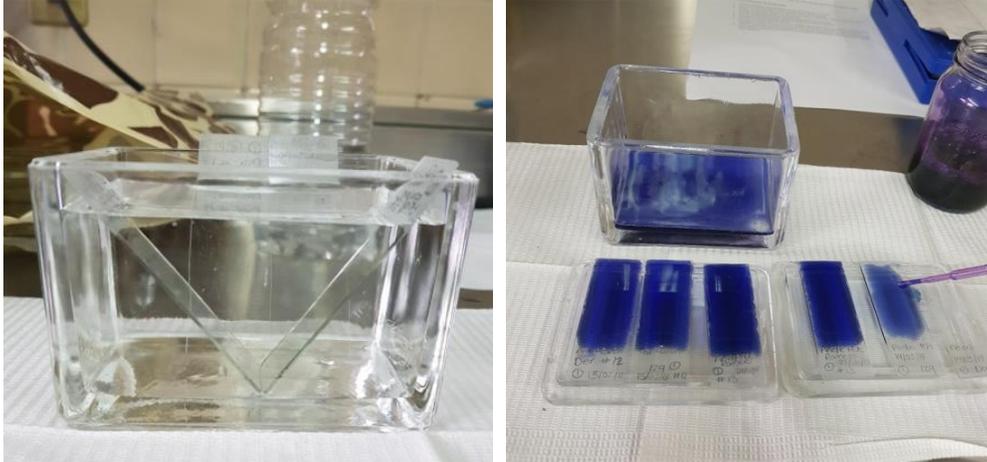


Figura 14. Lavado de laminillas con agua destilada por 2 minutos. (Lado derecho). Tinción colorante Giemsa al 4%, el colorante cubre toda la superficie de la laminilla. (Lado izquierdo)

Análisis de las laminillas. Se utilizó microscopio digital Omax 40x-2000x con sistema de imágenes digitales USB 1.3MP (1280x1024 píxeles)

Los frotis se observaron con objetivo 40x

Se realizó el conteo de al menos 1,000 células por laminilla y se tomaron 15 fotos de cada laminilla para el mejor análisis de células.

Se analizó cada foto donde se buscaron de acuerdo a los criterios establecidos por Tolbert et al. (1991):

- Células normales
- Células con micronúcleos
- Células binucleadas
- Células picnoticas
- Células con cariorexis
- Células con kariolisis

7. Implicaciones bioéticas

Este estudio se apega a los estatutos de la Declaración de Helsinki y el proyecto será dado a revisión del Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UAEMex.

Se respeta el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud que en su Título 2º. Cap. I, establece los siguientes artículos:

Art. 16.

- Se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice.

Art. 17, Inciso I.

- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

Art. 21, Inciso VIII.

- No se identificará al sujeto y se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.

Art. 23.

- En caso de investigaciones sin riesgo, la Comisión de Ética, por razones justificadas, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado para la toma de muestra

8. Análisis Estadístico

Se consideró un muestreo de 10 pacientes y 30 tomas de cada uno. Se realizó una comparativa de medias por medio de la prueba t de student para conocer si hay un cambio significativo en las muestras después de la colocación de coronas acero cromo

Se utilizó Microsoft Office Excel 2010.

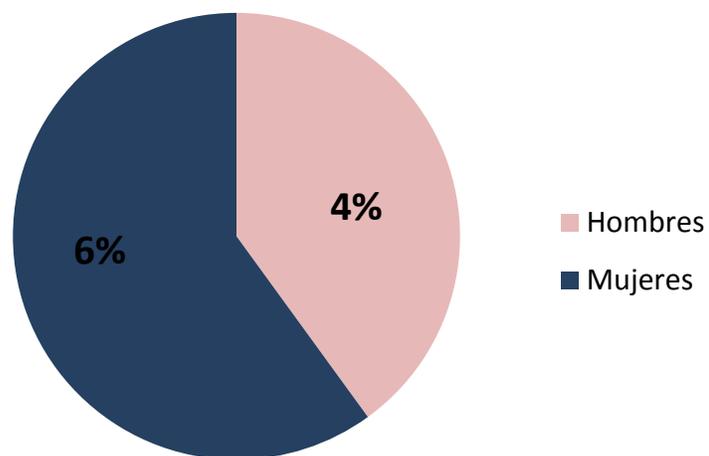
VII. Resultados

El desarrollo de este trabajo permitió la identificación de micronúcleos y alteraciones celulares en las células epiteliales de la mucosa yugal de los pacientes. Las anomalías encontradas fueron Micronúcleos, binucleadas, picnosis, cariólisis y cariorexis.

Se tomaron muestras de 10 pacientes, los cuales pasaron por dos etapas. Etapa previa a la colocación de coronas y etapa posterior a la colocación de coronas, en ambas etapas, una vez que el conteo mínimo de células por laminilla fuera de 1000 se tomaron 15 fotos por laminilla con la finalidad de hacer el conteo de anomalías celulares cubriendo toda la laminilla.

El promedio de edad de los pacientes fue de 6.8 años, la muestra incluyó 4 hombres y 6 mujeres (Gráfica 1), los cuales tuvieron un índice de biopelícula de 28% a 75% (Gráfica 2), con índices de caries de segundo y tercer grado en 6 pacientes y de segundo, tercero y cuarto grado en 4 pacientes. (Tabla 3.)

Gráfica 1. Distribución de la muestra por sexo



Gráfica 2. Registro del Índice de biopelícula por paciente

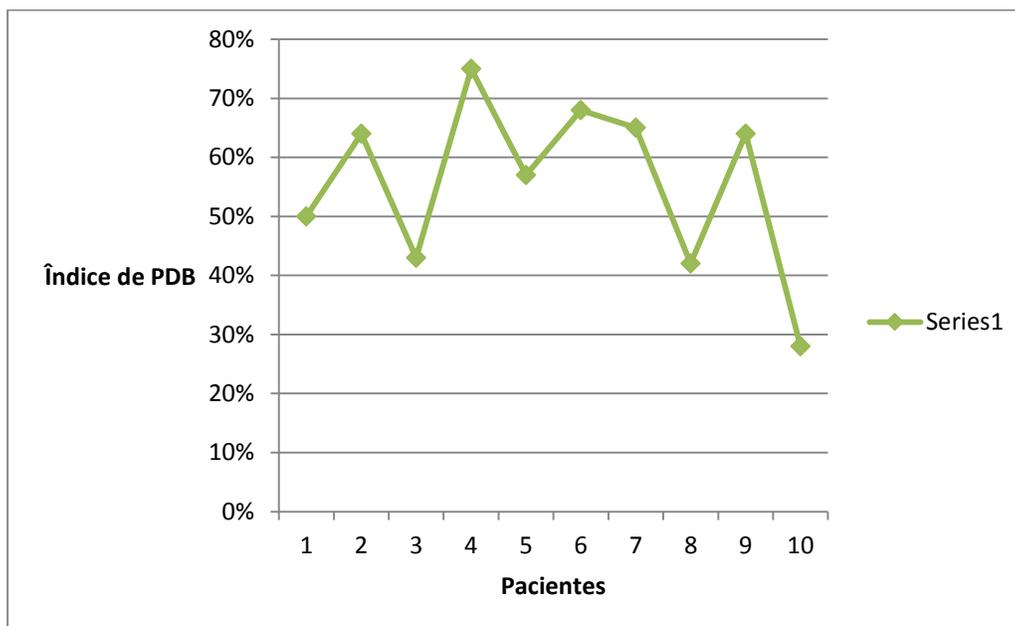


Tabla 3. Datos descriptivos de los pacientes

Paciente	Edad	Sexo	Índice de biopelícula	Grado de caries
Paciente 1	9.8	M	50%	2, 3
Paciente 2	4.6	F	64%	2, 3
Paciente 3	3.9	F	43%	2, 3
Paciente 4	6.9	F	75%	2, 3, 4
Paciente 5	10.1	F	57%	2, 3
Paciente 6	9.11	F	68%	2,3,4
Paciente 7	4.8	M	65%	2,3
Paciente 8	9.0	M	42%	2,3
Paciente 9	5.5	M	64%	2,3,4
Paciente 10	4.7	F	28%	2,3,4

Se realiza una prueba t para comparar si las medias del lado derecho e izquierdo son semejantes respectivamente antes de la colocación de la corona metálica. (Tabla 4) Donde se observa que al ser el valor absoluto del estadístico t menor al valor crítico se deduce que las medias son estadísticamente iguales.

Tabla 4. Prueba T para validar lado derecho e izquierdo en etapa pre corona

Prueba t para medias Etapa pre corona		
	<i>Derecho</i>	<i>Izquierdo</i>
Media	2,69	3,05
Varianza	0,45	0,58
Observaciones	15	15
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,12	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	-1,30	
P(T<=t) una cola	0,11	
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	0,22	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

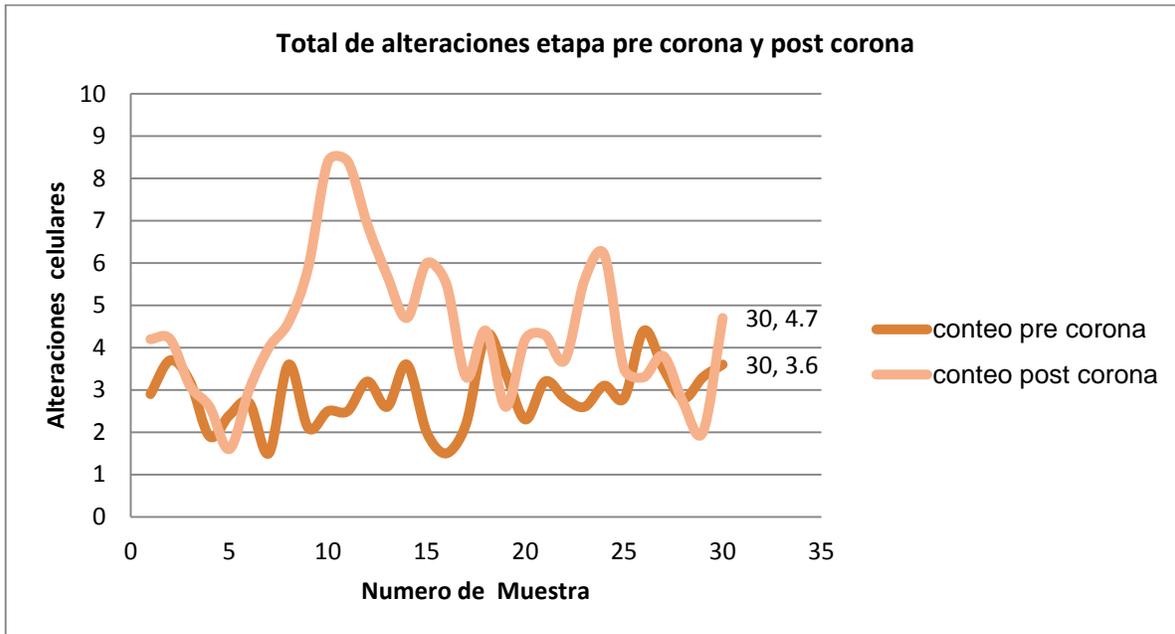
El mismo análisis de medias se realiza después de la colocación de las coronas para el lado derecho y el izquierdo respectivamente (Tabla 5) donde se obtiene que al ser el valor absoluto del estadístico t menor al valor crítico, las medias son estadísticamente iguales tanto para células normales como para el resto de alteraciones celulares (micronúcleos, binucleadas, picnosis, cariorexis, caliolisis). Esto indica que el lado de colocación de la corona no predispone al daño celular.

Tabla 5. Prueba T para validar lado derecho e izquierdo en etapa pre corona

Prueba t para medias Etapa Post corona		
	<i>Derecho</i>	<i>Izquierdo</i>
Media	4,89	3,99
Varianza	4,02	1,39
Observaciones	15	15
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,05	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	1,46	
P(T<=t) una cola	0,08	
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	0,17	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

En el conteo del global de alteraciones encontramos una diferencia estadísticamente significativa en la comparación de medias de las alteraciones celulares (micronúcleos, binucleadas, picnosis, cariorexis, caliolisis) entre la etapa pre y post corona por lo tanto notamos que si hay un cambio en las células de la mucosa oral después de la colocación de coronas. Las alteraciones celulares en donde se encontró mayor diferencia fueron cariorexis y cariolisis.

Grafica 3. Análisis del total de alteraciones etapa pre corona y post corona

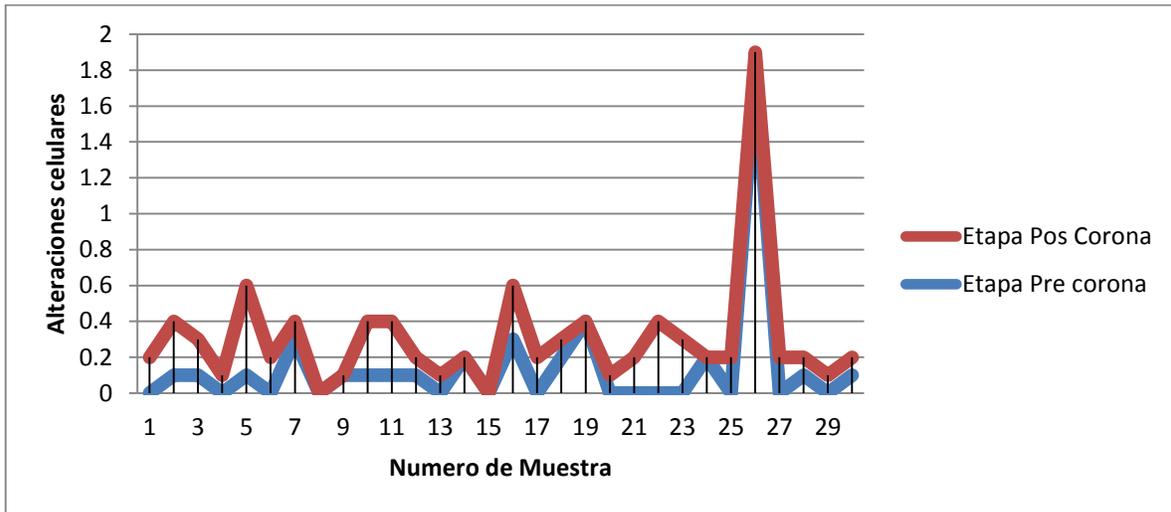


Al conteo específico de micronúcleos en ambas etapas se encuentra que no hay una diferencia estadísticamente significativa dado que al ser el valor absoluto del estadístico t menor al valor crítico, las medias son estadísticamente iguales. (Tabla 6). La colocación de coronas no influye para la aparición de nuevos micronúcleos en la mucosa oral. Grafica 4.

Tabla 6. Prueba T para Media de Micronúcleos etapa pre y post corona

Prueba t para medias Micronúcleos	Antes	Después
Media	0,14	0,16
Varianza	0,11	0,02
Observaciones	30	30
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,15	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	29	
Estadístico t	-0,25	
P(T<=t) una cola	0,40	
Valor crítico de t (una cola)	1,70	
P(T<=t) dos colas	0,81	
Valor crítico de t (dos colas)	2,05	

Grafica4. Conteo de micronúcleos en la etapa pre y post corona



Al realizar el análisis individual por paciente se encontró que si hay una diferencia estadísticamente significativa en el total de alteraciones en la mucosa oral después de 15 días de haber colocado la primera corona. Grafica 5. El índice de biopelícula de cada paciente no muestra relación con el total de alteraciones celulares (micronúcleos, binucleadas, picnosis, cariorexis, caliolisis) y se encontró que la edad no es un factor asociado al daño celular. (Tabla 7)

Grafica 5. Análisis total de alteraciones etapa pre y Post corona por paciente

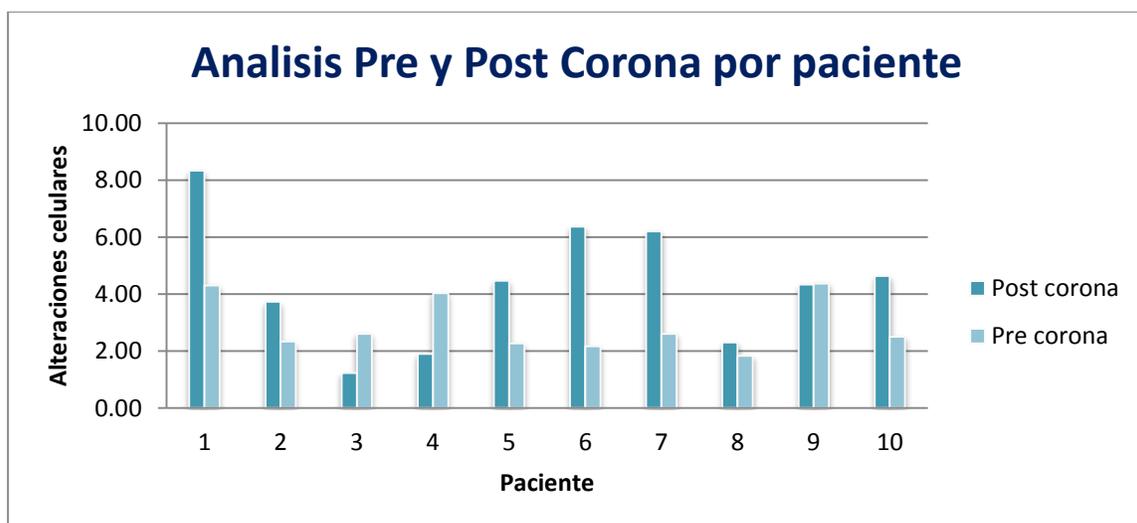


Tabla 7. Reporte del Índice de biopelícula y alteraciones celulares

Paciente	Índice de Placa	Total de alteraciones	
		Antes	Después
4	75%	4,03	1,90
6	68%	2,17	6,37
7	65%	2,60	6,20
2	64%	2,33	3,73
9	64%	4,37	4,33
5	57%	2,27	4,47
1	50%	4,30	8,33
3	43%	2,60	1,23
8	42%	1,83	2,30
10	28%	2,50	4,63

VIII. Discusión

La caries se considera un problema de salud pública a nivel mundial, afecta 90% de la población de América Latina.⁴ El grado de la misma, las características de estas lesiones y la morfología de los dientes temporales hacen necesaria la utilización de restauraciones económicas, resistentes y duraderas.⁶

Los pacientes que acuden para recibir atención a la clínica de la especialidad de Odontopediatría de la facultad de Odontología de la UAEMex tienen una prevalencia de caries temprana de la infancia del 85% según un estudio realizado por Ramírez en 2012, lo que hace necesario el uso de restauraciones como las coronas metálicas preformadas.⁴¹

Hay estudios que contrastan sus resultados al determinar si la colocación de coronas metálicas produce daño al ADN celular o no debido a la capacidad de liberación iónica del metal en el medio acuoso como lo es la boca.^{14,15}

La prueba de micronúcleos utilizada en este estudio es una técnica no invasiva, confiable y es adecuada para determinar el daño en el cromosoma en la cavidad oral.³⁹ Las células bucales tienen un potencial limitado para la reparación del ADN lo que las hace adecuadas para observar la inestabilidad del genoma en comparación con las células que reparan el daño del ADN de manera más eficiente⁴²

Acorde con estudios (Castro *et al.* 2004).³⁹ el promedio normal de las frecuencias de micronúcleos varía de una población a otra (0.03% a 0.47%) y estas diferencias dependen de factores genéticos y ambientales como alimentación, edad, sexo, etc. Nosotros encontramos que los promedios de las frecuencias de micronúcleos fueron 0.14 en la etapa pre corona y 0.16 en la etapa post corona, considerándose dentro del rango de lo normal.

Nuestros datos concuerdan con un estudio realizado por Heravi *et al.* 2013 donde incluyó a 25 personas sanas que requirieron tratamiento de ortodoncia, colocó

brackets de acero inoxidable y arcos de níquel-titanio. Las células de la mucosa oral se recolectaron antes de la colocación y 9 meses después, encontrando que no hay diferencias significativas en la frecuencia de las células micronucleadas antes y después de la colocación de aparatos ortodóncicos indicando también que el tiempo no es determinante para el aumento de daño celular en el epitelio bucal. Resultado que coincide con lo encontrado en el estudio que se presenta. En contra parte, Martínez et al. (2013) Observaron que en 37 participantes la frecuencia de las células micronucleadas aumentó linealmente, evidencia de daño genotóxico inducido por iones metálicos 45 días después causado por la exposición a Ni en niños con coronas metálicas.¹⁸

Lo recomendable en nuestro estudio sería continuar la línea de investigación por más tiempo hasta la exfoliación de dientes con coronas y observar si hay variación en el conteo de células con micronúcleos y demás alteraciones celulares.

La genotoxicidad es un proceso que puede llevar a la apoptosis por lo que un aumento significativo de células con núcleos en cariólisis y cariorexis puede sugerir daño genotóxico, así lo menciona Castro *et al.* 2004 en su estudio de Micronúcleos y otras anomalías nucleares en el epitelio oral en mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas.³⁹ En este estudio, se observó aumento de las alteraciones apoptóticas después de la colocación de coronas por lo que se considera importante el monitoreo además de buscar alternativas restaurativas libres de metal evitando la exposición crónica y con ella la posible degeneración prematura del epitelio bucal exponiéndolo a mecanismos de reparación y eliminación de células anormales innecesariamente.

Natarajan et al. (2011) determinaron el daño genotóxico de células de la mucosa bucal de pacientes con aparatología ortodóncica fija, concluyendo que los iones níquel y cromo en cantidades suficientes inducen efectos genotóxicos localizados revirtiéndose al finalizar el tratamiento.²⁸ De este modo se deduce que la exfoliación de dientes temporales restaurados con coronas metálicas podría ser el término del daño celular local (cariólisis y cariorexis) en la mucosa oral.

IX. Conclusiones

Lo encontrado en este estudio indica que no hay aumento estadísticamente significativo en el conteo de micronúcleos en las células exfoliadas de la mucosa oral después de la colocación de coronas metálicas en pacientes pediátricos. Sin embargo esta misma exposición sugiere daño al ADN identificado por el aumento significativo de células apoptóticas específicamente cariolisis y cariorexis, indicando un posible daño genotóxico

No se encontró relación con la cantidad de biopelícula y la presencia de alteraciones celulares, sin embargo está claro la relación que hay entre esta y la caries, por lo que una buena higiene es esencial para evitar restauraciones extensas como lo son la coronas y con ello la presencia de alguna alteración celular derivada de cualquier tipo de restauración.

Se sugiere ampliar la muestra y un seguimiento de cada paciente hasta la exfoliación de los dientes restaurados con coronas. De esta manera se podría observar cualquier cambio celular derivado de las restauraciones metálicas. Motivo para continuar con la investigación debido a que el paciente pediátrico es susceptible a éste y más elementos que predisponen a una alteración en los tejidos orales.

X. Referencias Bibliográficas

1. Oropeza Oropeza A, Molina Frechero N, Castañeda Castaneira E, Zaragoza Rosado Y, Cruz Leyva D. Caries dental en primeros molares permanentes de escolares de la delegación Tláhuac. Revista ADM 2012; 69(2): 63-8.
2. Campos CE. Etiología de la caries, estreptococo mutans, capacidad buffer salival y tipo de dieta. Revista ADM 1985; 42: 43-50.
3. Szpunar SM, Eklund SA, Burt BA. Sugar consumption and caries risk in schoolchildren with low caries experience. Community Dent Oral Epidemiol 1995; 23: 1426.
4. Cuéllar González MA, Hernández Gallardo I, Mondragón Mojica, Martínez-Herrera E, Rodríguez López A. Prevalencia de caries y factores asociados en niños de estancias infantiles. Gac Méd Méx 2000;136(4):132-135
5. Rodríguez Vilchis LE, Contreras Bulnes R, Arjona Serrano J, Soto Mendieta R, Alanís Tavira J. Prevalencia de caries y conocimientos sobre salud-enfermedad bucal de niños (3 a 12 años) en el Estado de México. Revista ADM. 2006; 63(5):170-175.
6. Rojas Reynoso, Gasca Argueta. Coronas estéticas de nano-resina híbrida en dientes temporales. Reporte de caso. Rev Odontologica Mexicana 2014;18(4):51
7. Ortiz E, Montalvo A, Sáez S, Bellet L; Coronas de Acero Inoxidable (Parte I); Revista Odontológica de Especialidades. 2008; 7:91
8. Boj JR, Catalá M, García- Ballesta C, Mendoza A. Odontopediatría. Barcelona: Masson 2ed; 2005.
9. Seale NS. Stainless steel crowns in pediatric dentistry. Pediatr Dent 2002; 24:501-5
10. Sharaf AA, Farsi NM. A clinical and radiographic evaluation of stainless steel crowns for primary molars. J Dent 2004; 33(1):27-33.
11. Attari N, Roberts JF. Restoration of primary teeth with crowns: a systematic review of literatura. Eur Arch Paediatr Dent 2006; 7 (2):58-62

12. Ramos de Guzmán, A. Coronas en Odontología Pediátrica en: Conceptos Básicos en Odontología Pediátrica. Cátedra de Odontología Pediátrica U.C.V.; Disinlimed. Caracas 1996.p. 281-318.
13. McDonald, R., Avery. Odontología Pediátrica para el Niño y el Adolescente. Panamericana. Argentina; 1990.p. 750
14. Vijaya Bhaskar B, Subba-Reddy V. Biodegradation of nickel and chromium from stainless steel crowns and space maintainers - an in vitro study. Ann. Dent. Univ. Malaya 1997; 4: 17-21.
15. JS, Oh KT, Hwang CJ In vitro surface corrosion of stainless steel and NiTi orthodontic appliances. Aust. Orthod. J. 2003; 19: 13-18.
16. Liu IH, Lee TM, Chang CY, Liu CK. Effect of load deflection on corrosion behavior of NiTi wire. J. Dent. Res. 2007; 86: 539-543.
17. Amini F, Borzabadi FA, Jafari A, Rabbani M. *In vivo* study of metal content of oral mucosa cells in patients with and without fixed orthodontic appliances. Orthod. Craniofac. Res. 2008; 11: 51-56.
18. Morán Martínez J, Monreal-de Luna K.D, Betancourt Martínez N.D, Carranza Rosales P, Contreras Martínez J.G, López Meza M.C, et al. Genotoxicity in oral epithelial cells in children caused by nickel in metal crowns. Genetics and Molecular Research 2013;12 (3): 3178-3185
19. Pedemonte S, Chimenos E and López J.El níquel en odontología. DENTUM Rev. Mat. Dentales 2006; 6: 26-34.
20. Zinelis S, LambrinakiT, Kavvadia K, Papagiannoulis L. Morphological and compositional alterations of in vivo aged prefabricated pediatric metal crowns. Dental Materials 2008; 24:216-220.
21. Keinan D, Mass E, Zilbermann U. Absorption of nickel, chromium, and iron by the root surface of primary molar covered with stainless steel crowns. International Journal of Dentistry 2010:1-4.
22. Menek N, Basaran S, Karaman Y, Ceylan G, Sen Tunk E. Investigation of nickel ion release from stainless steel crowns by square wave voltammetry. Int. J. Electrochem. 2012; 7:6465-6471.

23. Bhaskar V, Subba R. Biodegradation of nickel and chromium from space maintainers: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prevent Dent* 2010; 28:6-12.
24. Castro Amor M. Descripción de cambios morfológicos y elementos liberados en coronas de acero cromo (estudio ex vivo). *Revista Colombiana de Investigación en Odontología* 2013; 4 (11): 74-82
25. Hiroe Kodaira, Kohachiro Ohno, Naoko Fukase, Midori Kuroda, Shiki Adachi, Motohiro Kikuchi, and Yoshinobu Asada. Release and systemic accumulation of heavy metals from preformed crowns used in restoration of primary teeth. *Journal of Oral Science* 2013;55 (2): 161-165
26. Prieto F, Cortés S, Gaytan OJC, Ceruelo A, Vazquez P. Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *J. Res. Environ. Sci. Toxicol* 2012; 11 (1): 279-293.
27. Alonso Zotea A, González López BS, Torres Bugarin O, Robles Navarro, JB. Tesis. Identificación de micronucleos y anomalías nucleares en mucosa bucal de niños expuestos y no expuestos a plaguicidas .Universidad Autónoma Del Estado De México. 2015-08
28. Gómez Arcila V, Fang Mercado L, Herrera Herrera A, Díaz Caballero. El níquel y su vínculo con el agrandamiento gingival: revisión de la literatura. *Avances en Periodoncia* 2014; 26(2): 83-89
29. 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 Dentofacial Orthop* 2011;140: 383-388
30. Faccioni F, Franceschetti P, Cerpelloni M, Fracasso ME. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124:687-93;
31. Lewinska D, Palus J, Stepnik M, Dziubaltowska E. Micronucleos frequency in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells of copper smelter workers, with special regard to arsenic exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Healt.* 2007; 80:371-380

32. Ribeiro DA, Favero Salvadori DM, da Silva RN, Ribeiro Darros B, Alencar Marques ME. Genomic instability in non-neoplastic oral mucosa cells can predict risk during 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Oral Oncol* 2004; 40:910-5.
33. Gómez, F. M. E. & Campos, M. A. *Histología Bucal*. Capítulo 5: Cavity Bucal. 2000.
34. 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. *Disease Markers*. 2014, Article ID 956835, 13 pages, 2014. doi:10.1155/2014/956835
35. M. Zalacain¹, L. Sierrasesúmaga², A. Patiño¹. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *An. Sist. Sanit. Navar*. 2005; 28 (2)
36. Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res*. 1975; 31(1): 9-15.
37. Torres Bugarín O, Zavala Cerna MG, Macriz Romero N, Flores García A, Ramos Ibarra ML. Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *El Residente*. 2013; 8 (1): 4-11.
38. Calvert G, Talaska G, Müller C, Ammenheuser M, W.Au, J. Fajen, Fleming L, Briggie T, Ward E. Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutat. Res*. 1998; 417: 115-128.
39. Castro R, Ramírez V, Cuenca P. Micronúcleos y otras anomalías nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Rev. Biol. Trop*. 2004;52 (3): 611-621
40. Bonassi S et al. The Human Micronucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res*. 728 (3); 88-97.
41. Ramírez Elenes L.C, Guadarrama Quiroz L.J, Pedraza Contreras G, González López B. S., Prevalencia de caries severa temprana de la infancia en pacientes que acuden a la clínica de la especialidad en Odontopediatría UAEM de

Febrero 2006-Mayo del 2012. (Proyecto terminal para obtener la Especialidad en Odontopediatría). Toluca: Universidad Autónoma del Estado de México, 2013

42. Heravi F, Abbaszadegan MR, Merati M, Hasanzadeh N, Dadkhah E, Ahrari F. Daño del ADN en células de la mucosa oral de pacientes con aparatos de ortodoncia fijos. *J Dent (Teherán)*. 2013; 10 (6): 494–500.

XI. Anexos



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO

Facultad de Odontología

Especialidad en Odontopediatría



Procedimiento para realizar la investigación: “Detección de micronúcleos y anomalías nucleares después de la colocación de Coronas metálicas en niños”

La investigación consiste en identificar los micronúcleos y otras anomalías nucleares después de la colocación de coronas metálicas prefabricadas para evaluar los efectos genotóxicos que son aquellos agentes químicos o físicos que tienen afinidad para interactuar y modificar el ADN.

El procedimiento es el siguiente:

Se tomará la muestra en las instalaciones de la clínica de la Especialidad de Odontopediatría de la Facultad de Odontología de la UAEMéx.

Previo a la toma de la muestra cada participante se enjuagará suavemente la boca con agua potable, con la finalidad de remover cualquier resto de comida o artificios que puedan interferir con el análisis. El paciente deberá estar en una posición relajada y sentada(o), posteriormente se tomará la muestra de la mucosa oral mediante un gentil raspado en la parte interna de cada mejilla con un porta objeto de bordes esmerilados. Para la fijación de las muestras en el portaobjeto se utilizará un mechero así evitar la modificación y/o contaminación de las mismas hasta su posterior análisis. Las muestras se trasladarán al departamento de patología de la UAEM donde se teñirán y se analizarán con microscopio para la detección de micronúcleos y alguna otra anomalía nuclear.

Yo, _____ he comprendido la información brindada, así mismo se me han explicado las dudas surgidas durante la explicación. Por tal motivo firmo de conformidad para la realización de dicha prueba a mi hijo (a): _____

Nombre y firma del padre o tutor del paciente: _____

Nombre y firma del investigador: _____



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO

Facultad de Odontología

Especialidad en Odontopediatría

CONSENTIMIENTO INFORMADO



Toluca, México a ____ de _____ de 201__

A quien corresponda:

Por medio de la presente yo Sr/Sra. _____ acepto

libre y voluntariamente que mi hijo(a) o tutorado(a): _____

participe en el estudio “Detección de micronúcleos y anomalías nucleares después de la colocación de Coronas metálicas prefabricadas”, el cual se llevara a cabo en la Clínica de la especialidad de Odontopediatría de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México, como parte del proyecto de investigación que realizara la C.D Fatima Patoni Hernández.

Se me ha informado que los procedimientos y pruebas que se realizaran a mi hijo(a) o tutorado(a) consistirá en la toma de una muestra con un portaobjetos de bordes esmerilados mediante un raspado gentil en la cata interna de cada mejilla así como la revisión minuciosa de su estado bucal. La toma de muestra no implica ningún riesgo a la salud del menor; se me ha manifestado que la información que pueda obtenerse del estudio será utilizada con fines no lucrativos, meramente académicos y difusión preservando en todo momento la confidencialidad del niño. De igual manera el estudio se realizara bajo el asentimiento de mi hijo(a) o tutorado(a) y estoy consciente de que seré informado(a) de los resultados que emanen de esta investigación. Así mismo se me ha informado que de creerlo necesario en cualquier momento podre retirarme de la investigación no viéndose afectada la atención de mi hijo(a) como paciente en dicha clínica.

Nombre y firma del padre o tutor del paciente: _____

Nombre y firma del investigador: _____

Nombre y firma Testigo _____



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO
Facultad de Odontología
Especialidad en Odontopediatría



Hoja de registro Toma de Muestras

No. de registro: _____

Fecha: _____ No. De expediente: _____ Tel. _____

Nombre del paciente: _____

Edad: _____ Años Sexo: Masculino _____ Femenino _____

Muestra 1

Fecha de la muestra	
No. Micronúcleos	
Otras anormalidades nucleares:	
Comentarios	

Fecha: Colocación de corona: _____

Muestra 2

Fecha de la muestra	
No. Micronúcleos	
Otras anormalidades nucleares:	
Comentarios	



DETECCIÓN DE ANOMALIAS CELULARES EN MUCOSA ORAL DESPUÉS DE COLOCAR CORONAS METÁLICAS EN NIÑOS

Fátima Patoni Hernández, Norma Leticia Robles Bermeo, Edith Lara Carrillo, Víctor Hugo Toral Rizo
Universidad Autónoma Del Estado de México
Facultad de Odontología



I. Introducción

Las coronas de acero como son restauraciones empleadas frecuentemente en Odontopediatría.¹ La biocompatibilidad de un metal, se relaciona con su capacidad de liberación iónica en un medio acuoso, la cavidad oral es adecuada para la biodegradación de metales por sus propiedades iónicas, térmicas, microbiológicas y enzimáticas. Estas condiciones, conducen a efectos adversos a nivel local en la mucosa oral.^{2, 3, 4} La genotoxicidad es la capacidad para causar daño al material genético por agentes físicos, químicos o biológicos, el daño no es permanente, se activan mecanismos de reparación, y/o eliminación de la fuente genotóxica.^{5, 6} La técnica de micronúcleos y alteraciones nucleares es un biomarcador fiable, no invasivo que monitorea el daño ADN, es útil para medir el daño genotóxico causado por las aleaciones metálicas.⁷

II. Objetivo

Detectar la presencia de micronúcleos y otras las anomalías nucleares después de la colocación de coronas en niños que acuden a la clínica de la especialidad de Odontopediatría en la UAEMéx.

III. Metodología

Se seleccionaron 10 pacientes de la Especialidad de Odontopediatría de la UAEMéx, entre 3 y 10 años, aparentemente sanos, sin restauraciones metálicas y que requirieran coronas metálicas. Se realizaron dos citologías exfoliativas de la mucosa yugal del paciente, la muestra basal al ingreso del paciente y la segunda muestra 15 días después de la colocación de la primera corona. (Figura 1) Se registro grado de caries por profundidad y biopelícula de acuerdo al índice O'leary. Las laminillas se tiñeron con Giemsa al 4% (Figura 2), posteriormente se analizaron con microscopio digital Omax 40x-2000x. (Figura 3) Se realizó una comparativa de medias por medio de la prueba t de student.



Fig. 1 Toma de citología exfoliativa en mucosa yugal del paciente



Fig. 2 Tinción de laminillas con Giemsa al 4%

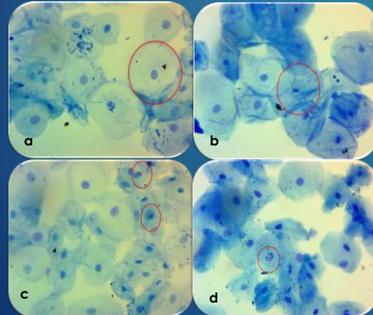


Fig. 3 Fotografía microscópica de anomalías celulares. a. Se observa micronúcleo. b. El núcleo picnótico con alta densidad de material nuclear. c. Cariorexix la membrana nuclear esta fracturada y la cromatina en grupos. d. Cariolisis el núcleo está completamente vacío de ADN.

IV. Resultados

Se encontró diferencia estadísticamente significativa antes y después de la colocación de coronas metálicas en anomalías nucleares excepto en la detección de micronúcleos ($p < 0.05$). (Grafica 1). Las alteraciones celulares en donde se encontró mayor diferencia fueron cariorexix y cariolisis.

El índice de biopelícula de cada paciente no muestra relación con el total de alteraciones celulares (micronúcleos, binucleadas, picnosis, cariorexix, cariolisis) y se encontró que la edad no es un factor asociado al daño celular (Tabla 1).



Tabla 1. Relación del índice de biopelícula y edad con respecto a las medias de las alteraciones celulares

Paciente	Edad	Índice de Biopelícula	Total de alteraciones	
			Antes	Después
4	6.9	75%	4.03	1.90
6	9.11	68%	2.17	6.37
7	4.8	65%	2.60	6.20
2	4.6	64%	2.33	3.73
9	5.5	64%	4.37	4.33
5	10.1	57%	2.27	4.47
1	9.8	50%	4.30	8.33
3	3.9	43%	2.60	1.23
8	9.0	42%	1.83	2.30
10	4.7	28%	2.50	4.63

V. Conclusiones

Se encontraron alteraciones celulares en la mucosa oral posteriores a la colocación de coronas metálicas donde hubo un aumento significativo de células apoptóticas específicamente cariorexix y cariolisis, indicando un posible daño genotóxico

No se encontró relación con la cantidad de biopelícula y la presencia de alteraciones celulares, sin embargo está claro la relación que hay entre ésta y la caries, la prevención es esencial para evitar restauraciones extensas como las coronas y con ello la presencia de alguna alteración celular derivada de cualquier tipo de restauración.

No hay repercusiones clínicas, no obstante se requieren estudios más amplios para determinar si el daño celular temprano predispone al epitelio a cambios clínicos futuros debido a que el paciente pediátrico es susceptible a éste y más elementos que predisponen a una alteración en los tejidos orales.

Bibliografía:

1. Bai JR, Catalá M, García-Ballesta C, Mendoza A. Odontopediatría. Barcelona: Masson 2da; 2005.
2. Vijaya Bhaskar B, Subba-Reddy V. Biodegradación de níquel y cromo de coronas de acero inoxidable y espaciadores - un estudio in vivo. Ann. Dent. Univ. Malaya 1997; 4:17-21.
3. J.S, Ch KT, Hwang CJ. In vitro surface corrosion of stainless steel and NiTi orthodontic appliances. Aust. Orthod. J. 2003; 19: 139-18.
4. Aminji F, Borzabadi FA, Jafari A, Rabbani M. In vivo study of metal content of oral mucosa cells in patients with and without fixed orthodontic appliances. Orthod. Craniofac. Res. 2008; 11: 51-56.
5. Prieto F, Carreira S, Gaytan O, Gil, Givella A, Vazquez P. Prevalencia, clasificación, usos y toxicidad. Measures of exposure and genotoxic risks. J. Res. Environ. Sci. Toxicol 2012; 11 (1): 279-293.
6. Ribeiro DA, Favero Salvadori DM, da Silva RN, Ribeiro Dantas B, Alencar Marques ME. Genomic instability in non-neoplastic oral mucosa cells can predict risk during 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. Oral Oncol 2004; 40:910-5.
7. Morán Martínez J, Moraleda-de Luna KD, Belancourt Martínez N.D, Carranza Rosales P, Contreras Martínez J.G, López Meza M.C, et al. Genotoxicity in oral epithelial cells in children caused by nickel in metal crowns. Genetics and Molecular Research 2013; 12 (3): 3178-3183.



La Universidad Autónoma de Guadalajara
Facultad de Odontología

a través de la

otorga el presente

Reconocimiento

a

Fátima Patoni Hernández, Norma Leticia Robles Bermeo, Edith Lara Carrillo, Víctor Hugo Toral Rizo

por su presentación cartel del tema:

**DETECCIÓN DE ANOMALIAS CELULARES EN MUCOSA ORAL DESPUÉS DE COLOCAR
CORONAS METÁLICAS EN NIÑOS**

durante el marco del XXVII Encuentro Nacional y XVIII Iberoamericano
de Investigación en Odontología.

Zapopan, Jalisco, 6, 7 y 8 de noviembre de 2019.

C.D.E.E. Alberto Rafael Arriola Valdés
Director de la Facultad de Odontología

Dr. Ansaury de Jesús Pozos Guillén
Presidente de la Sociedad Nacional
de Investigadores en Odontología