



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO EN MUCOSA
BUCAL POR USO DE BRACKETS MEDIANTE EL ANÁLISIS DE
LA INTEGRIDAD DEL DNA Y CUANTIFICACIÓN DE ENZIMAS
ANTIOXIDANTES”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

**PRESENTA:
JESSICA ISABEL AGUILAR MONTIEL**

**ASESORA: DRA. VIRGINIA SÁNCHEZ MONROY
COASESORA: DRA. MARITERE DOMÍNGUEZ ROJAS**

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARIA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: VOTO: **APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis y examen profesional

Evaluación del efecto genotóxico en mucosa bucal por uso de brackets mediante el análisis de la integridad del DNA y cuantificación de enzimas antioxidantes.

Que presenta la pasante: **Jessica Isabel Aguilar Montiel.**

Con número de cuenta: **417039954** para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de septiembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Nydia Berenice González Angeles	
VOCAL	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
SECRETARIO	L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo	
1er. SUPLENTE	M. en E. Rosa María de los Ángeles López Cabrera	
2do. SUPLENTE	Dra. María Eugenia Aranda Barradas	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARIA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ASUNTO: VOTO **APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán**



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis y examen profesional

Evaluación del efecto genotóxico en mucosa bucal por uso de brackets mediante el análisis de la integridad del DNA y cuantificación de enzimas antioxidantes.

Que presenta la pasante: **Jessica Isabel Aguilar Montiel**.

Con número de cuenta: 417039954 para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de septiembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Nydia Berenice González Angeles</u>	
VOCAL	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	
SECRETARIO	<u>L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo</u>	
1er. SUPLENTE	<u>M. en E. Rosa María de los Ángeles López Cabrera</u>	
2do. SUPLENTE	<u>Dra. María Eugenia Aranda Barradas</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARIA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: VOTO: **APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR TICCIROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y examen profesional**

Evaluación del efecto genotóxico en mucosa bucal por uso de brackets mediante el análisis de la integridad del DNA y cuantificación de enzimas antioxidantes.

Que presenta la pasante: **Jessica Isabel Aguilar Montiel.**

Con número de cuenta: **417039954** para obtener el Título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de septiembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Nydia Berenice González Angeles</u>	_____
VOCAL	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	_____
SECRETARIO	<u>L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo</u>	
1er. SUPLENTE	<u>M. en E. Rosa María de los Ángeles López Cabrera</u>	_____
2do. SUPLENTE	<u>Dra. María Eugenia Aranda Barradas</u>	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U.N.A.M.

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES

ASUNTO: VOTO: **APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR GONZALEZ
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán
DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y examen profesional**

Evaluación del efecto genotóxico en mucosa bucal por uso de brackets mediante el análisis de la integridad del DNA y cuantificación de enzimas antioxidantes.

Que presenta la pasante: **Jessica Isabel Aguilar Montiel.**

Con número de cuenta: **417039954** para obtener el Título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de septiembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Nydia Berenice González Angeles	_____
VOCAL	Dra. Maritere Domínguez Rojas	_____
SECRETARIO	L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo	_____
1er. SUPLENTE	M. en E. Rosa María de los Ángeles López Cabrera	
2do. SUPLENTE	Dra. María Eugenia Aranda Barradas	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES
ASUNTO: VOTO **APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y examen profesional**

Evaluación del efecto genotóxico en mucosa bucal por uso de brackets mediante el análisis de la integridad del DNA y cuantificación de enzimas antioxidantes.

Que presenta la pasante: **Jessica Isabel Aguilar Montiel.**

Con número de cuenta: **417039954** para obtener el Título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de septiembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Nydia Berenice González Angeles</u>	_____
VOCAL	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	_____
SECRETARIO	<u>L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo</u>	_____
1er. SUPLENTE	<u>M. en E. Rosa María de los Ángeles López Cabrera</u>	_____
2do. SUPLENTE	<u>Dra. María Eugenia Aranda Barradas</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg

*A Dios, a mis padres y hermanos, a mi familia y amigos
por ser mi hogar aun estando a kilómetros de distancia.*

Para ustedes.

Por ustedes.

Gracias.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biomedicina molecular de La Escuela Nacional De Medicina y Homeopatía perteneciente al Instituto Politécnico Nacional bajo la asesoría de la Dra. Virginia Sánchez Monroy.

Índice general

Índice de imágenes.....	11
Índice de gráficas	11
Índice de tablas	12
Abreviaciones	14
Resumen	15
Marco teórico.....	16
Ortodoncia	16
Maloclusiones dentales	16
Aparatos de ortodoncia	17
Composición de los brackets.....	17
Cavidad oral.....	18
Genotoxicidad	20
Genotoxicidad por metales.....	22
Estrés oxidativo.....	25
Antioxidantes	27
Expresión génica	30
Justificación.....	32
Objetivos	33
Objetivo general	33
Objetivos particulares	33
Material y métodos	34
Grupo de estudio	34
Toma de muestra	34
Extracción de DNA	35
Electroforesis en gel	35
Extracción de RNA	35
Pool de RNA.....	36
RT-qPCR en tiempo real	36

Análisis estadístico para la degradación de DNA.....	37
Análisis de expresión génica de enzimas SOD y CAT	38
Resultados	39
Evaluación de degradación de DNA por electroforesis en gel de agarosa	39
Modulación de enzimas antioxidantes.....	45
Análisis de resultados.....	49
Conclusión.....	53
Referencias	54
Anexos.....	58

Índice de imágenes

Imagen 1. Clasificación de las maloclusiones dentales	16
Imagen 2. Mecanismos de daño del ADN inducido por nanomateriales (genotoxicidad).	20
Imagen 3. Desequilibrio entre la formación de radicales libres y la formación de antioxidantes.	25
Imagen 4. Gel representativo de la integridad del DNA en el T0	39
Imagen 5. Gel representativo de la integridad del DNA en el T1	41
Imagen 6. Gel representativo de la integridad del DNA en el T2	42

Índice de gráficas

Gráfica 1. Niveles de expresión génica de la enzima antioxidante SOD	45
Gráfica 2. Niveles de expresión génica de la enzima antioxidante CAT	47

Índice de tablas

Tabla 1. Principales especies reactivas de oxígeno y nitrógeno	26
Tabla 2. Tipos de antioxidantes no enzimáticos	27
Tabla 3. Tipos de antioxidantes enzimáticos	27
Tabla 4. Secuencia de los primers utilizados en la PCR	36
Tabla 5. Mezcla de reacción para la amplificación de las enzimas antioxidantes.	37
Tabla 6. Condiciones de amplificación para enzimas antioxidantes	37
Tabla 7. Degradación del DNA en el T0	40
Tabla 8. Degradación del DNA en el T1	41
Tabla 9. Degradación del DNA en el T2	42
Tabla 10. Proporción de la degradación del DNA	43
Tabla 11. Datos cruzados para las muestras antes de tratamiento y 6 meses después del tratamiento	44
Tabla 12. Datos cruzados para las muestras antes de tratamiento y 9 meses después del tratamiento	44
Tabla 13. Prueba de McNemar para muestras	44
Tabla 14. Análisis del cambio de la expresión relativa del gen SOD	45
Tabla 15. Estadísticos descriptivos del cambio de expresión relativo de SOD	46
Tabla 16. Prueba de contraste para enzima SOD	46
Tablas 17. Análisis del cambio de la expresión relativa del gen CAT	46

Tabla 18. Estadísticos descriptivos del cambio de expresión relativo de CAT	47
Tabla 19. Prueba de contraste para enzima CAT	47

Abreviaciones

AOF	Aparatos de ortodoncia fijos
CAT	Catalasa
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementario
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTP	Desoxinucléotidos
ERN	Especie reactiva de nitrógeno
ERO	Especie reactiva de oxígeno
GADPH	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
miRNA	Micro ácido ribonucleico
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
O₂	Oxígeno molecular
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RL	Radical libre
RNA	Ácido ribonucleico
RNAsa	Enzima RNAsa
RT-PCR	Retrotranscripción acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa
RT-qPCR	Retrotranscripción acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa
SOD	Superóxido dismutasa

Resumen

Se estima que las maloclusiones dentales, caracterizadas por la incorrecta alineación de los dientes son una de las principales problemáticas de salud oral a nivel mundial. Los aparatos de ortodoncia fijos, como los brackets, que son el tratamiento más común para estos problemas dentales y para mejorar la estética facial están constituidos principalmente por materiales metálicos como cromo, níquel y cobalto y se ha demostrado que al estar en contacto constante con los tejidos bucales pueden causar su corrosión y liberar iones metálicos al medio y causar daño genotóxico, citotóxico y estrés oxidativo en los pacientes que los utilizan en un periodo de tiempo prolongado. Por lo cual, el objetivo del presente estudio ha sido evaluar el efecto genotóxico y estrés oxidativo que puede causar este tipo de aparatos de ortodoncia en la mucosa bucal de pacientes antes y después de un tratamiento ortodóncico. Para ello, fueron tomadas muestras de la mucosa oral de 50 pacientes antes de iniciar el tratamiento, y a los 6 y 9 meses después de haber iniciado el tratamiento. Se evaluó la degradación del DNA mediante electroforesis en gel de agarosa además de realizar un análisis de la expresión génica de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) a partir de la cuantificación relativa usando RT-qPCR. Los resultados demostraron que a los 9 meses de haber iniciado el tratamiento existía una mayor degradación del DNA, en comparación con las muestras de antes de iniciar el tratamiento. Además, se observó que hubo una sobreexpresión de la enzima SOD aumentando su expresión a 2.7 veces más en 6 meses y 2.8 veces más a los 9 meses de haber iniciado el tratamiento. Por otro lado, CAT tuvo un aumento de la expresión génica de 3.2 veces más a los 6 meses con respecto a la expresión inicial, sin embargo, hubo un nivel de expresión similar a la normal a los 9 meses. Los resultados en conjunto indicaron que el uso de brackets posiblemente conduce a daño al material genético, además de provocar un aumento de especies reactivas de oxígeno lo que, en consecuencia, lleva a una producción elevada de SOD tratando de contrarrestar el efecto oxidativo. Por otra parte, el nivel de expresión de enzima CAT pudiera indicar que a los 6 meses trata de contrarrestar el daño, mientras que, el nivel de expresión a los 9 meses puede sugerir una posible adaptación o bien el agotamiento de este antioxidante celular por el efecto permanente del aparato ortodóncico.

Marco teórico

Ortodoncia

La ortodoncia es una especialidad del área odontológica que tiene como propósito estudiar, prevenir y corregir alteraciones del desarrollo, las formas dentarias y la posición de los maxilares para tratar los trastornos funcionales de la masticación, así como obtener un equilibrio entre la morfología y la funcionalidad de la boca y cara, además, de mejorar la estética facial. (SEDO, s.f.)

Maloclusiones dentales

Las maloclusiones dentales resultan por anomalías morfológicas y funcionales de los componentes óseos, musculares y dentarios. Provocan una alteración en la función dental, de la articulación, deglución y la masticación (García, 2011). Existen diversos tipos de maloclusiones (*Imagen 1*), dependiendo de las relaciones dentarias y óseas (SEDO, s.f.).

- **Clase I:** En este tipo de maloclusión, los maxilares tienen una correcta relación, sin embargo, los dientes presentan una posición adelantada y puede haber apiñamiento o no (SEDO, s.f.).
- **Clase II:** Se denomina así cuando hay un adelantamiento maxilar superior y se puede presentar con o sin apiñamiento (SEDO, s.f.).
- **Clase III:** Son aquellas maloclusiones que se caracterizan por presentar las estructuras dentarias inferiores adelantadas con respecto a la base ósea mandibular. Al igual que en las otras clases, se puede tener o no un apiñamiento dental (SEDO, s.f.).

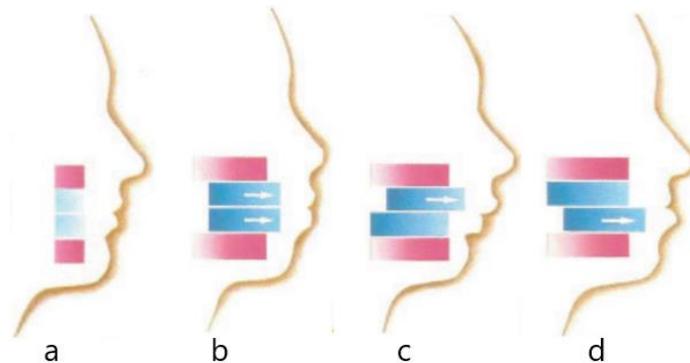


Imagen 1. Clasificación de las maloclusiones dentales a) oclusión normal b) maloclusión clase I c) maloclusión clase II d) maloclusión clase III. Modificado de SEDO s.f.

Aparatos de ortodoncia

En el tratamiento de ortodoncia se utilizan distintos tipos de aparatos que llevan a cabo la corrección del tipo de maloclusión que presente el paciente. En caso del tratamiento correctivo se utilizan, principalmente, tres tipos: aparatos funcionales, removibles y fijos (SEDO, s.f.).

- 1. Aparatos funcionales:** Se denominan funcionales ya que en un principio provocan cambios funcionales para, posteriormente, dar lugar a cambios estructurales. Tienen como objetivo modificar la función de los músculos de la cara y masticatorios para dar lugar al desarrollo de un medio más óptimo para los maxilares en desarrollo mejorando su potencial en el desarrollo, es por ello que son indicados en la etapa de dentición temporal o mixta, más no en la dentición definitiva (SEDO, s.f.).
- 2. Aparatos removibles:** son aparatos que pueden ser removidos por el mismo paciente para la limpieza, pero cuando se colocan van sujetos firmemente a los dientes. Con estos aparatos, comúnmente conocidos como “placas” se pueden tratar la expansión de los maxilares, la corrección de mordidas cruzadas y el apiñamiento leve de los dientes (SEDO, s.f.).
- 3. Aparatos fijos:** Este tipo de aparatos son los únicos que pueden realizar todo tipo de movimientos. En estos se colocan pequeñas láminas cementados sobre la superficie de cada uno de los dientes, así como, la utilización de arcos para generar el desplazamiento. Este tipo de aparatos tiene la capacidad de mover de forma individual cada una de las piezas dentales (SEDO, s.f.).
- 4.** El tratamiento de ortodoncia con aparato fijo suele durar de 6 a 30 meses, según la gravedad del problema de ortodoncia y el alcance del tratamiento de ortodoncia propuesto (Circus orthodontic, 2020).

Composición de los brackets

Los brackets, un tipo de aparato de ortodoncia fijo, pueden estar compuestos de distintos materiales, dependiendo del tratamiento que se quiera dar y del tipo de paciente con el que se esté trabajando es que se elige con qué tipo de brackets se va a trabajar.

- **Brackets de acero inoxidable:** Este tipo de material sigue siendo el material estándar para los aparatos de ortodoncia (Proffit *et al*, 2019). El acero inoxidable es una aleación de metales entre hierro y carbono, además de que debe contener, como mínimo, un 10.5% de cromo. Asimismo, los aparatos de ortodoncia contienen una cantidad del 8% de Níquel (Nabeel *et al*, 2013).

- **Brackets de titanio:** Utilizar brackets de titanio presenta varias ventajas, una de las principales es evitar la respuesta alérgica al níquel que contienen los brackets de acero inoxidable. Además de que presentan la misma resistencia que los brackets de acero inoxidable, pero la mitad de su rigidez lo que mejora su adhesión dental (Proffit *et al*, 2019).
- **Brackets de plástico y plásticos compuestos:** Estos aparatos tienen la ventaja de mejorar la apariencia estética, sin embargo, no tienen la resistencia y estabilidad necesaria (Proffit *et al*, 2019).
- **Brackets de porcelana:** La porcelana es un tipo de vidrio (alúmina cristalina) y por lo tanto, suelen ser más frágiles, sin embargo, son aparatos bastante duraderos y resistentes a la pigmentación (Proffit *et al*, 2019).
- **Brackets de metales preciosos:** Generalmente los aparatos de estos materiales son hechos de acero inoxidable con un recubrimiento de algún material precioso como oro, platino o paladio (Smile&more, s.f.).
- **Brackets de zafiro:** El zafiro, al ser un material similar al cristal, provoca una apariencia más estética en el paciente, sin embargo, son más frágiles y el movimiento dental es más lento, además, de que el precio de fabricación es más elevado en comparación con los brackets de acero inoxidable (Smile&more, s.f.).

Estos materiales han ido cambiando a lo largo del tiempo, principalmente para satisfacer las demandas estéticas del paciente. Estos cambios son gracias al desarrollo de nuevos materiales y técnicas de fabricación, sin embargo, los brackets de ortodoncia más utilizados siguen siendo los metálicos para el tratamiento de rutina (Abdallah *et al*, 2019).

Cavidad oral

La cavidad oral es un entorno muy dinámico el cual está sujeto a diversos aspectos como tensiones mecánicas como es el comer y hablar, además, de que también presenta cambios constantes por el consumo de alimentos y la temperatura de estos así como cambios en el pH local. Es un entorno en el cual los tejidos duros como los dientes, los microorganismos comensales y el epitelio de la mucosa contribuyen a la homeostasis (Cruchley & Bergmeier, 2018).

Está conformada por los labios, el velo del paladar, la bóveda palatina, el piso de la boca y las mejillas, todos estos componentes están recubiertas totalmente de mucosa. Además, en la cavidad bucal, se encuentran presentes los dientes y la lengua (Actis, 2014).

Al estar en tratamiento de ortodoncia, en especial con aparatología fija, éste se encuentra en constante contacto con la mucosa bucal. La mucosa oral tiene diversas funciones que se resumen en la protección ante daños potenciales, gracias a que aportan protección ante daños mecánicos, también impiden la entrada a microorganismos y funcionan como barrera a la permeabilidad de sustancias nocivas. Para este propósito también intervienen células inmunocompetentes como células de Langerhans y linfocitos. Además, de las funciones protectoras que cumple la mucosa oral, tiene funciones sensoriales importantes como temperatura, gusto, dolor y tacto (Cruchley & Bergmeier, 2018).

La mucosa bucal está formado por epitelio queratinizado que se encuentra en el paladar duro y las encías, además, también contiene epitelio no queratinizado que se encuentra en la mucosa sublingual y bucal. El epitelio que recubre la cavidad oral se trata de un epitelio de tipo escamoso estratificado y es la barrera principal entre el entorno y los tejidos (Cruchley & Bergmeier, 2018). En profundidad se halla una capa submucosa más laxa en la que se localizan los vasos sanguíneos, adipocitos y glándulas salivales menores (Actis, 2014).

Además, la mucosa oral tiene la capacidad de renovarse ya que las células de las capas profundas se dividen mitóticamente y se diferencian a medida que migran a la superficie y reemplazan a las células que se desprenden en la superficie (Cruchley & Bergmeier, 2018).

El tiempo que tardan en renovarse las células de la superficie depende de la queratinización, pues el epitelio no queratinizado se renueva más rápidamente, cada 25 días aproximadamente, mientras que el epitelio queratinizado como el de las encías tarda de 41 y 75 días (Cruchley & Bergmeier, 2018).

Genotoxicidad

Se ha observado que el uso de aparatos de ortodoncia fijos, tienen una respuesta genotóxica en los pacientes a lo largo del tratamiento. La genotoxicidad es el daño químico y físico al material genético al estar expuesto a agentes endógenos o exógenos. El tipo de daño que los agentes pueden provocar al material genético depende de su mecanismo de acción ya que el daño que puede provocar son distintos, ya sea a nivel molecular o a nivel cromosómico (Doak, 2017).

Los mecanismos de genotoxicidad se pueden clasificar en dos categorías (Imagen 3) que son los mecanismos primarios y secundarios.

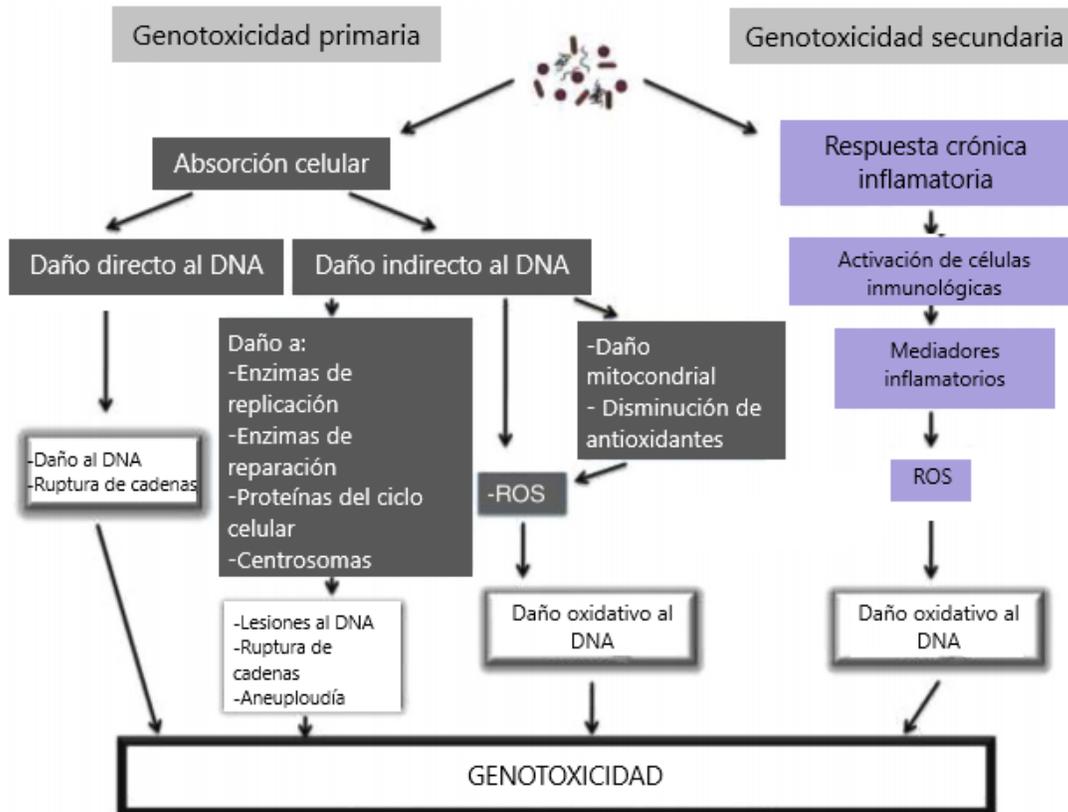


Imagen 2. Mecanismos de daño del ADN inducido por nanomateriales (genotoxicidad). Tomado y modificado de Doak, 2017

Mecanismos primarios de genotoxicidad

Los mecanismos primarios de genotoxicidad son aquellos impartidos por materiales que están a nivel celular por lo que requieren una internalización en la célula para que se logre la interacción con las biomoléculas. Este tipo de genotoxicidad puede ser producido por interacción directa o agentes de interacción indirecta (Doak, 2017).

- *Interacción directa:* Es aquella en la que los agentes están en contacto directo con el material genético causando daño químico o físico. Es por ello que los materiales deben ser capaces de penetrar el núcleo celular o estar libre en el citoplasma para tener la oportunidad de estar en contacto directo con el DNA durante la mitosis cuando la membrana del núcleo celular desaparece. Este tipo de interacción incluye lesiones en sitios específicos al DNA el cual puede generar mutagénesis así como desestabilizar los nucleótidos resultando en pérdida de estos y por lo tanto, generación de sitios abásicos. Además, durante la replicación, la base dañada no puede ser reconocida por la enzima polimerasa el cual resulta en la producción de mutaciones puntuales o roturas de cadenas. Los agentes de interacción directa también tienen la capacidad de intercalarse dentro de la estructura de doble hélice del DNA que puede causar daño físico en forma de rupturas de una o las dos hebras (Doak, 2017).

La genotoxicidad también puede generar mutaciones génicas, que pueden ser sustitución de pares de bases, mutaciones por desplazamiento de marco de lectura que surgen por la inserción o deleción de bases que implica una modificación en la lectura de los tripletes lo que produce, generalmente, la creación de un codón de paro prematuro y como resultado un producto proteico incompleto (Stammberger, 2006).

- *Interacción indirecta:* En este tipo de interacción, el daño al material genético ocurre mediante biomoléculas intermediarias. La replicación del DNA y la división celular es un proceso complejo que requiere un gran número de proteínas que pueden ser potenciales objetivos para producir genotoxicidad indirecta. Por ejemplo, el daño puede suceder a las proteínas que se requieren para la segregación de los cromosomas; a enzimas involucradas en el proceso de reparación del DNA o en proteínas implicadas en el proceso de replicación cromosomal y como consecuencia provocar aberraciones cromosómicas (Doak, 2017).

En este grupo también se encuentran las anomalías en el número de cromosomas por segregación de cromosomas durante la mitosis o meiosis y pueden expresarse como trisomía o monosomía. Igualmente puede haber daño en la estructura del cromosoma y puede ser equilibrada en la cual no hay ni ganancia ni pérdida de material genético pero un segmento cromosómico no se encuentra en el “lugar correcto” y pueden ser

translocaciones, inserciones o inversiones cromosómicas. Además, se pueden encontrar alteraciones en la estructura cromosómica no equilibrada en la que hay pérdida o ganancia de material genético que puede afectar a todo el cromosoma o solo a una parte de él (Malan, 2015).

Otra forma de genotoxicidad indirecta se debe a la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) los cuales, son generadas en mayor cantidad después de la exposición a agentes endógenos causando lesiones oxidativas al DNA que pueden generar mutaciones (Doak, 2017).

Mecanismos secundarios de genotoxicidad

Los mecanismos de genotoxicidad secundarios son aquellos que resultan de una respuesta inflamatoria crónica causada por un exceso de ROS. Este es un mecanismo de defensa de cuerpo para prevenir la invasión por patógenos, pues la inflamación aguda permite la eliminación de estos cuerpos extraños, sin embargo, cuando existe una inflamación crónica promueven el estrés oxidativo y como consecuencia, un daño a las células. En este tipo de mecanismo de genotoxicidad, los agentes no tienen la capacidad genotóxica, pero sus características químicas y físicas les permite promover una respuesta inmunológica crónica (Doak, 2017).

Genotoxicidad por metales

La cavidad oral proporciona un ambiente idóneo para la biodegradación de los metales por los cambios de temperatura, el cambio constante de pH, alta humedad, presencia de microorganismos y acción de la fuerza mecánica, además de que la saliva, al ser un electrolito, permite que se lleven a cabo diversos procesos electroquímicos que afectan al aparato de ortodoncia. Estos procesos provocan un debilitamiento en la estructura de los materiales con los que están compuestos, promoviendo su corrosión liberando iones metálicos al ambiente, que principalmente son iones de níquel, cobalto o cromo conocidos por su potencial para generar daño a nivel biológico (Malkiewicz, 2018).

La mayoría de los metales logran generar genotoxicidad que puede ser debido a la interacción directa del ion metálico con el DNA nuclear o indirectamente a través de la generación de especies reactivas capaces de atacar al DNA nuclear y los nucleótidos libres; cambiando el equilibrio celular y mediante la inhibición de los mecanismos de reparación del DNA (Bal *et al*, 2011). Además, existen diversos factores que influyen en el mecanismo de acción específico de cada uno de los metales como la dosis, vía de exposición y duración (Hernández-Franco, 2009).

1. Genotoxicidad por interacción directa de los iones metálicos con el DNA

La estructura del DNA de doble hélice, permite la protección de las bases nitrogenadas ante los iones metálicos, lo que deja al grupo fosfato como el blanco principal de iones metálicos. Según diversos estudios la afinidad de los cationes metálicos es similar a la afinidad del ion fisiológico Mg^{+2} , aunque debido a las altas concentraciones de Mg^{+2} intracelulares, no supone un gran problema genotóxico. Sin embargo, existen iones metálicos de transición, como cobre, níquel, cobalto o cadmio que tienen la capacidad de interactuar con los heteroátomos de nitrógeno del anillo de las bases nitrogenadas, principalmente los nitrógenos de adenina y guanina que forman enlaces con estos iones de manera más efectiva produciendo estructuras que afectan a la conformación de los nucleótidos (Bal *et al*, 2011).

En caso del cobre, se ha demostrado que produce la formación de aductos y forma un complejo ternario acoplado al DNA a través del oxígeno fosfatado, provocando un daño genotóxico (Bal *et al*, 2011).

Los iones metálicos también pueden interactuar directamente con proteínas nucleares, principalmente con histonas, en las cuales, el sitio de unión es proporcionado por ligandos de cadena lateral de cisteína, histidina, triptófano, fenilalanina, ácido glutámico, ácido aspártico, y en algunos por amidas desprotonadas de enlaces peptídicos (Bal *et al*, 2011).

2. Genotoxicidad por interacción indirecta

Otro mecanismo de genotoxicidad, incluye la generación de especies peróxidos metálicos y óxidos metálicos que pueden interactuar con el DNA. Las ROS derivadas también pueden reaccionar con otros blancos moleculares, produciendo especies radicales secundarias, estas especies genotóxicas pueden ser peróxidos e hidroperóxidos de lípidos (Bal *et al*, 2011).

El níquel, es un metal que no es reactivo con O_2 y H_2O_2 , sin embargo, se convierte en reactivo cuando estas moléculas son queladas por tetraglicina o glicilglicilhistidina. Esto causa la producción de radicales que son capaces de dañar al DNA y a las histonas (Bal *et al*, 2011).

Además, algunos iones metálicos como el cobre, tienen la capacidad redox, por lo que puede formar complejos que conducen a la oxidación de bases derivando a la formación del complejo 8-oxo-G e indirectamente la ruptura de las hebras de DNA (Bal *et al*, 2011).

Los iones metálicos también pueden causar daño al DNA al agotar los antioxidantes celulares de bajo peso molecular, como glutatión, ácido ascórbico y ácido lipóico. Como resultado, el peróxido de hidrógeno y otras ROS generadas como subproductos del metabolismo celular

normal no se eliminan lo suficiente y pueden elevar el nivel de daño del DNA. Otro efecto indirecto del agotamiento de antioxidantes es el cambio redox celular hacia condiciones oxidativas, llevando a las células a un estrés oxidativo (Bal *et al*, 2011).

La inhibición de los mecanismos de reparación del DNA es un mecanismo de la genotoxicidad indirecta de los iones metálicos (Bal *et al*, 2011). Muchas lesiones generadas al material genético son remediadas por proteínas de reparación directa del DNA, como lo son la O-alquilguanina-ADN alquiltransferasa, O-metilguanina-ADN metiltransferasa (MGMT), la familia AlkB y la fotoreactivación, sin embargo, se ha observado que la proteína O-alquilguanina-ADN alquiltransferasa se ve inhibida por ciertos iones metálicos como lo son cadmio, cobre, mercurio, zinc y plata, que son iones presentes en algunos brackets metálicos. Por otro lado, también se demostró que la proteína MGMT se ve inhibida por metales como mercurio, zinc, cadmio, plomo, aluminio y hierro (Hernández-Franco, 2009).

Otro sistema de reparación de DNA que se ve afectado por la interacción de iones metálicos es el sistema de reparación por escisión de bases que es el encargado de eliminar daños pequeños generados de manera endógena o exógena. Dentro de este sistema de reparación, las DNA glicosiladas son enzimas claves para que se realice el proceso adecuadamente, pues estas remueven las diferentes bases dañadas o modificadas, sin embargo, se sabe que estas moléculas son blancos de algunos metales iónicos. Por ejemplo, el cromo (Cr) inhibe la expresión de la 8-oxoguanina DNA glicosilada (OGG1) en células humanas dependiente de concentración, además, de que se relaciona al Cobre, Cobalto, Níquel y Cadmio con la inhibición de la actividad de la 8-oxo-dGTPasa de MutT y MTH1 que tiene que ver con un aumento en los daños del DNA. Por otro lado, se sabe que los iones de Cromo inducen a la inactivación de la DNA polimerasa por la formación de aductos DNA-DNA. Los metales, además, son capaces de inducir la expresión de microRNA que puede justificar las modificaciones de la expresión de genes de reparación (Hernández-Franco, 2009).

Además, también puede producir daño genotóxico a las moléculas de RNA, pues todos los tipos de RNA interactúan con los iones metálicos debido a su estructura que es más abierta y flexible, en comparación con el DNA, por lo que son más propensos al ataque de los iones metálicos (Bal *et al*, 2011).

Estrés oxidativo

La utilización de aparatos de ortodoncia crea un ambiente muy complejo en la cavidad oral, en primer lugar, se observa una gran cantidad de células inmunes como respuesta a un proceso inflamatorio, además, de la inflamación como respuesta biológica a la aplicación de brackets, se ha observado un aumento en el estrés oxidativo, principalmente por la mayor expresión de factores proinflamatorios. El estrés oxidativo en la cavidad bucal ha sido objeto de estudio ya que se ha demostrado que puede ser el causante de ciertas enfermedades como periodontitis y carcinoma de células escamosas (Buczko *et al*, 2017).

El estrés oxidativo es resultado del desequilibrio entre la cantidad de especies prooxidantes y la capacidad del organismo de neutralizarlos mediante los sistemas antioxidantes lo que resulta en diversas alteraciones en las biomoléculas (*Imagen 3*) (Buczko *et al*, 2017).

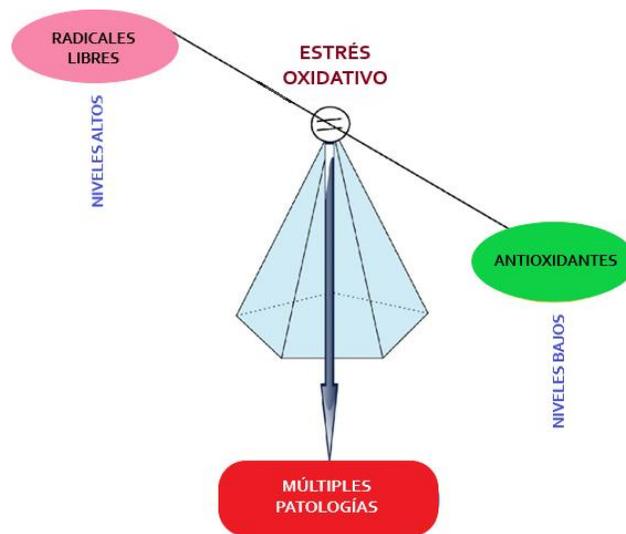


Imagen 3. Desequilibrio entre la formación de radicales libre y la formación de antioxidantes, provocando estrés oxidativo. (Tomado y modificado de Ighodaro *et al*, 2018)

Los radicales libres (RL) o especie reactiva de oxígeno (ERO) (Tabla 1) son moléculas que contienen oxígeno así como electrones desapareados lo que provoca que sean potencialmente reactivos. Tienen la capacidad de interactuar con componentes celulares como el DNA, lípidos y proteínas y tomar sus electrones para estabilizarse lo que provoca, al mismo tiempo, desestabilización de las moléculas de los cuales tomaron los electrones (Mandal, 2019).

Los radicales libres se forman a través de procesos celulares normales y se generan en el metabolismo oxidativo mitocondrial durante la respiración celular, en su mayoría para llevar a cabo procesos beneficiosos para el organismo como la destrucción de patógenos por los

glóbulos blancos (Ighodaro *et al*, 2018). Además, se requieren para mantener la homeostasis celular, la transducción de señales, la expresión génica, la activación del receptor, el reconocimiento de patógenos, asegurando la viabilidad celular, proliferación, migración, diferenciación (Pisoschi *et al*, 2021).

Tabla 1. Principales especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN). (Tomado de Sánchez, *et al*, 2013)

Radicales libres	No radicales
ERO Superóxido, $O_2^{\cdot-}$ Hidroxil, OH^{\cdot} Hidroperoxil, HO_2^{\cdot} Peroxil, RO_2^{\cdot} Alcoxil, RO^{\cdot} Singulete, $O_2^1\Sigma^+$	ERO Peróxido de hidrógeno, H_2O_2 Ácido hipobromoso, HOBr Ácido hipocloroso, HOCl Ozono, O_3 Peróxidos orgánicos, ROOH
ERN Óxido nítrico, NO^{\cdot} Dióxido de nitrógeno, NO_2 Radical nitrato, NO_3	ERN Ácido nitroso, HNO_2 Cation nitrosil, NO^+ Anión nitrosil, NO^- Tetra óxido di-nitrógeno, NO_2O_4 Tri óxido di-nitrógeno, NO_2O_3 Peroxinitrito, ONOO Peroxinitrato, O_2NOO Ácido peroxinitroso, ONOOH Alquil peroxinitrito, ROONO Alquil peroxinitrato, RO_2ONO

Existen tres postulados acerca de los radicales libres, pues se consideran agentes tóxicos y generadores de patologías (Mayor *et al*, 2010):

1. Los radicales libres constituyen un mecanismo molecular común de daño cuando los seres vivos son sometidos a altas presiones de oxígeno y radicales ionizantes.
2. El estrés oxidativo genera efectos tóxicos.
3. La producción de radicales libres es un fenómeno continuo que tiene consecuencias en el envejecimiento y están implicados en el proceso de carcinogénesis.

Antioxidantes

Los antioxidantes son aquellas sustancias que inhiben o retrasan la oxidación de moléculas biológicamente relevantes (Flora *et al*, 2015). Además, se consideran antioxidantes a todas aquellas sustancias, que en concentraciones normales, tengan una mayor afinidad a los radicales libres que cualquier otra sustancia (Mayor *et al*, 2010). Pueden actuar a diferentes niveles como prevención en la formación de radicales libre, captación de radicales y reparación daños causados por los radicales (Ighodaro *et al*, 2018).

Existen diversos sistemas antioxidantes que pueden ser enzimáticos (Tabla 3), no enzimáticos (Tabla 2), o proteínas de unión, estos trabajan conjuntamente contra los radicales libres para resistir los efectos dañinos a las biomoléculas vitales (Mariaca *et al*, 2016).

Tabla 2. Tipos de antioxidantes no enzimáticos (Mariaca *et al*, 2016)

Antioxidantes no enzimáticos	
Hidrosolubles	Liposolubles
Ácido ascórbico	Tocoferol
Glutación	Ubiquinol
Cisteína	Retinoides
Ácido lipóico	Carotenos
Ácido úrico	

Tabla 3. Tipos de antioxidantes enzimáticos (Mariaca *et al*, 2016)

Antioxidantes enzimáticos
Superóxido dismutasa
Glutación peroxidasa
Catalasa
Glutación reductasa

Los antioxidantes pueden clasificarse de acuerdo con su respuesta a los radicales libres como antioxidantes de primera, segunda, tercera o incluso de cuarta línea (Ighodaro *et al*, 2018).

- i. Antioxidantes de primera línea: La función principal de los antioxidantes de primera línea de defensa es suprimir o prevenir la formación de radicales libre o especies reactivas en las células, neutralizan cualquier molécula con el potencial de convertirse en un radical libre. Las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX) forman parte de este grupo de antioxidantes, además, de las transferrina y caeruloplasmina que son proteínas de unión que quelan los iones metálicos, hierro y cobre respectivamente, para evitar la formación de radicales libres (Ighodaro *et al*, 2018).

- a. **Superóxido dismutasa (SOD):** La enzima SOD se encarga de la eliminación de los radicales superóxido (O^{2-}) producidos en la cadena de transporte electrónico mitocondrial, convirtiéndolos en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual, después es eliminado por la enzima catalasa (García, 1997).

Esta enzima requiere iones metálicos que funcionan como cofactores, dependiendo del tipo de iones que necesiten, se clasifican en tres isoenzimas. SOD_1 requiere del ion hierro (Fe) y se encuentra en células procariotas y cloroplastos; SOD_2 necesita de manganeso (Mn) para catalizar la reacción y están presentes en procariotas y mitocondrias de eucariotas y SOD_3 que necesita cobre (Cu) y zinc (Zn) y predominan en el citosol de las células eucariotas, aunque también se pueden encontrar en cloroplastos y peroxisomas (Ighodaro *et al*, 2018).

La velocidad de producción y la eficiencia de protección, principalmente de la enzima SOD_3 dependen de varios factores (García, 1997):

- El ritmo de producción del radical superóxido.
- La distribución de la enzima en relación con las proteínas.
- La velocidad de reacción relativa del O^{2-} con dichas proteínas y con la SOD_3 .

- b. **Catalasa (Cat):** Esta enzima se encuentra presente en casi todos los tejidos que necesitan oxígeno, principalmente en los peroxisomas pero ausente en mitocondrias de las células de casi todos los mamíferos. Cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua y oxígeno

molecular (O₂), continuando el proceso iniciado por SOD, utilizando hierro o manganeso como cofactor (Ighodaro *et al*, 2018).

Se han identificado tres grupos de catalasa (Díaz, 2003):

- i) Las catalasas monofuncionales, que contiene el grupo hemo y están presentes tanto en los organismos procariotas como en los eucariotas.
- ii) La Mn-catalasa, que son enzimas hexaméricas que no tienen el grupo hemo, tienen Mn en el sitio activo y sólo están presentes en algunos organismos procariotas anaerobios.
- iii) Las catalasas-peroxidasas, que tienen actividad de catalasa y de peroxidasa, contienen hemo y sólo están presentes en las bacterias y los hongos.

La catalasa además, protege a la hemoglobina del peróxido de hidrógeno que se genera en los eritrocitos, también tiene la función de proteger durante los procesos inflamatorios, evita el envejecimiento y ayuda en algunos tipos de cáncer (Díaz, 2003).

- ii. Antioxidantes de segunda línea: Los antioxidantes que pertenecen a este grupo son los responsables de eliminar a los radicales libres donándoles electrones los que provoca que ellos mismos se conviertan en radicales libres, sin embargo, son menos dañinos y se neutralizan fácilmente, En este grupo se encuentran el ácido ascórbico, el ácido úrico, el glutatión, el alfa tocoferol y el ubiquinol (Ighodaro *et al*, 2018).
- iii. Antioxidantes de tercera línea: En este grupo se encuentran los antioxidantes que actúan una vez que se ha producido el daño en los componentes celulares. Son enzimas *de novo* que reparan el daño y reconstituyen la membrana celular dañada, así mismo, reconocen, descomponen y eliminan proteínas oxidadas o dañadas, DNA y lípidos para evitar una acumulación que también puede ser tóxica para el tejido. En este grupo entran los sistemas reparadores de DNA como las polimerasas, glicosilasas y nucleasas, además, de enzimas proteolíticas (Ighodaro *et al*, 2018).
- iv. Antioxidantes de cuarta línea: La función de estos antioxidantes es crear un mecanismo de adaptación en el cual se induce la formación y el transporte del antioxidante indicado al lugar correcto en el que se requiere (Ighodaro *et al*, 2018).

Expresión génica

Las células responden a su entorno de muchas formas, incluidos los cambios de expresión génica. En pacientes con tratamiento de ortodoncia, las células epiteliales que se encuentran en la mucosa oral pueden tener diferencias en la expresión génica de algunos genes como respuesta a la constante exposición a iones metálicos provenientes de los aparatos de ortodoncia.

En diferentes células del mismo organismo, varios genes se expresan en distintos niveles y es este nivel de expresión el que confiere propiedades específicas a cada tipo de células. Además, el nivel de expresión génica puede variar en distintas condiciones que pueden ser etapas de desarrollo, exposición a estimulantes o fármacos y estados de enfermedad, entre otros (Nachtomy *et al*, 2007).

Un organismo, al no utilizar todos los productos génicos de manera simultánea, necesita de procesos que regulen la síntesis de estos productos, a este proceso se le denomina regulación de la expresión génica. El término expresión génica implica distintos procesos, desde la activación del gen hasta que la proteína llega al lugar adecuado y realiza su función específica (Hernández, 1994).

La regulación de la expresión génica, es un proceso complejo, pues involucra la interacción entre el DNA, el RNA, proteínas y el ambiente en la que se encuentra la célula (Signor & Nuzhdin, 2018). Además, comprende procesos de transcripción y traducción genética que a su vez están regulados por otros elementos, mecanismos y moléculas que pueden tener un impacto en la expresión génica (Glubb & Innocenti, 2010).

Existe un grupo de genes que se expresan de manera constante y son necesarios de manera continua para que se lleven a cabo los procesos celulares, llamados genes constitutivos. También existe otra serie de genes, que su expresión génica varían de acuerdo a los cambios del ambiente y las necesidades del organismo y la célula, es decir, responden a estímulos específicos, según se necesite una mayor o menor concentración del producto génico (Merino, s.f.) este grupo de genes, que responden a los diferentes mecanismos de regulación son llamados genes inducibles (Mateos, 2006).

En organismos eucariontes, existe una serie de mecanismos que se encargan de regular la expresión génica de los diferentes tipos de células ya que el DNA no solo se encuentra en el núcleo celular sino también en mitocondrias y cloroplastos (Mateos, 2006). Estos mecanismos pueden regulación epigenética, mediante miRNA o por factores de transcripción o postranscripción (Glubb & Innocenti, 2010).

En los mecanismos de regulación por factores epigenéticos, la metilación del DNA o la desacetilación de histonas, sirven para silenciar la transcripción de manera reversible. La acetilación de histonas está regulada por histonas acetilasas y desacetilasas, éstas tienen una estructura cerrada que evita que la maquinaria transcripcional acceda al DNA genómico. Este tipo de regulación afecta a muchas enzimas metabolizadoras y transportadoras de fármacos (Glubb & Innocenti, 2010).

Por otro lado, los miRNAs, son moléculas de RNA de cadena simple de 21-24 nucleótidos de longitud que se unen parcial o completamente a secuencias 3'UTR y reprimen la traducción por la degradación del mRNA, escisión o interferencia de la traducción. Se sabe que la expresión de miles de genes son regulados por miRNAs (Glubb & Innocenti, 2010).

El control por factores transcripcionales regula la expresión génica específica de un tejido y la expresión regulada durante el desarrollo, sin embargo, existen muchos genes, que suelen ser los responsables de codificar productos muy utilizados y degradados rápidamente, que son controlados por procesos postranscripcionales. Además, no en todos los genes se controla la expresión por cada uno de los niveles de regulación, sino que para cada gen existe un mecanismo particular que controla ese proceso (Hernández, 1994).

La expresión génica, a nivel transcripcional, comprende de diversos pasos de conversión de DNA en el núcleo a una proteína. El primer paso es la transcripción que se lleva a cabo en el núcleo celular, durante la transcripción de un gen, el RNA depende de RNA polimerasa II que dirige la síntesis de una molécula de mRNA. Esta molécula de mRNA es generalmente modificada por adiciones a cualquier extremo (5' o 3'), además, son removidas secuencias que interrumpen la secuencia del producto génico (intrones). El mRNA procesado es transportado al citoplasma y traducido a aminoácidos que codifican a una proteína (Nygaard & Hovig, 2009).

Para el análisis de la expresión génica que implica la medición del número de copias de secuencias de mRNA específicas, existen diversos métodos analíticos, entre ellos RT-PCR. En este método, el mRNA es transformado a cDNA mediante una transcripción inversa seguida de una amplificación por PCR con cebadores específicos de genes en presencia de una sonda que contiene un fluorocromo. Este fluorocromo emite señales, durante cada ciclo de PCR debido a la digestión de la polimerasa, que son directamente proporcionales a la cantidad inicial en la muestra (Stanton, 2001; Nygaard & Hovig, 2009).

Existen, principalmente, dos tipos de RT-PCR: de cuantificación relativa y cuantificación absoluta. La cuantificación relativa es utilizada para observar el nivel de expresión de un gen comparado con un gen control, que comúnmente es un gen constitutivo, en al menos, dos

condiciones diferentes. Por otro lado, la cuantificación absoluta proporciona el número de copias de una secuencia específica, utilizando una curva de calibración (Stanton, 2001).

Justificación

Las maloclusiones dentales son un problema importante dentro de la salud pública, según la Organización Mundial de la Salud, este tipo de alteración se encuentra en tercer lugar en complicaciones de salud bucal, solo después de las caries y las enfermedades periodontales. Además, solo en Latinoamérica, representan el 85% de incidencia en la población, de acuerdo con los datos reportados por la Organización Panamericana de la Salud.

Para el tratamiento de las maloclusiones dentales son utilizados aparatos de ortodoncia. Ya sean fijos o removibles, estos aparatos están constituidos principalmente por materiales metálicos, que pueden estar afectados por algún proceso de corrosión y liberar iones metálicos al medio. Por ello, se han realizado estudios para comprobar su biocompatibilidad, pues se sabe que la exposición prolongada a los metales puede causar problemas genotóxicos y estrés oxidativo en la mucosa bucal de los pacientes.

Con el presente estudio, se pretende evaluar el daño al material genético que genera la exposición a estos metales durante este tipo de tratamientos y su relación con el tiempo de exposición. Además, de analizar cómo afectan en la expresión de enzimas antioxidantes a lo largo del tratamiento a consecuencia del estrés oxidativo al que puede estar sujeto.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto genotóxico en mucosa bucal de los brackets utilizados durante 9 meses como terapia de ortodoncia, mediante la evaluación de la integridad del DNA y modulación de expresión génica de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) para evidenciar el posible daño genotóxico

Objetivos particulares

- Evaluar integridad del DNA de mucosa bucal por electroforesis antes de colocación de brackets y a los 6 y 9 meses posteriores a iniciar el tratamiento de ortodoncia.
- Evaluar la expresión génica de las enzimas antioxidantes SOD y CAT antes de colocación de brackets y a los 6 y 9 meses después de iniciar el tratamiento ortodóncico.

Material y métodos

Grupo de estudio

En el estudio para evaluar la genotoxicidad y para la cuantificación de enzimas antioxidantes se reclutaron pacientes que necesitaban tratamiento de ortodoncia. Los pacientes se reclutaron en el Área de Ortodoncia de la Unidad de Especialidades Odontológicas de la secretaria de la Defensa Nacional. Participó un grupo de 50 pacientes, que firmaron una carta de consentimiento que se explicó detalladamente (Anexo 1) mientras que a menores de 18 años se les hizo llegar el asentimiento informado (Anexo 2) explicando punto por punto el documento hasta que quedó comprendido. Para la selección del grupo de estudios se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión, de exclusión y de eliminación:

Criterios de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de maloclusión clase I y II, que en su plan de tratamiento no requieran extracciones dentales o cirugía.
- Pacientes con aparatología ortodóncica fija técnica MBT 0.022” Dentaurem Equilibrium®
- Pacientes con rango de edad de 12 a 36 años que no tuvieran restauraciones dentales elaboradas a base de aleaciones metálicas, como amalgamas, prótesis e implantes.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que hayan sido tratadas anteriormente con ortodoncia
- Pacientes con tabaquismo activo y antecedentes del mismo

Criterios de eliminación:

- Pacientes que abandonaron el tratamiento de ortodoncia
- Pacientes que revocaron voluntariamente su consentimiento informado

Toma de muestra

Se recolectaron las muestras cepillando suavemente la parte interna de la mejilla a los 50 pacientes con un cepillo citológico para la obtención de la mayor cantidad de células epiteliales, el cual se conservó en congelación en un tubo Eppendorf® con buffer de fosfatos hasta su utilización.

La recolección de la muestra se realizó, en los 50 pacientes, antes de la colocación de los brackets etiquetado como tiempo 0 (T0) que funcionaran, también, como muestras control. Además, se recolectaron las muestras a esos mismos pacientes a los 6 y 9 meses posteriores a la colocación de los aparatos de ortodoncia etiquetados como tiempo 1 (T1) y tiempo 2 (T2), respectivamente.

Extracción de DNA

Para realizar la extracción de DNA se utilizó el método de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico en cada una de las muestras. Para ello se utilizaron 50µl del sedimento la muestra (previamente centrifugada) los cuales se colocaron en un tubo Eppendor®, se agregaron 500µl de buffer de extracción y se mezcló suavemente por inmersión. Posteriormente se agregaron 50µl de proteinasa K y se incubó a 65°C por 20 minutos. Pasado el tiempo, se agregaron 500 µl de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico, se agitó por inmersión y se centrifugó a 11000 rpm durante 10 minutos. Se recuperó la fase acuosa y se adicionó NaCl [1M] en cantidad necesaria para que el volumen final tenga una concentración de 0.2M. Se agregaron 400 µl de isopropanol y se mezcló por inmersión hasta que se observó la hebra de DNA. Se centrifugó a 11000 rpm por 5 minutos, se retiró el sobrenadante y se lavó el pellet con 400 µl de etanol al 70% y se repitió el proceso de lavado una vez más. Finalmente, el pellet se secó al aire y se agregó 50 µl de agua libre de nucleasas para redissolver.

Electroforesis en gel

Para conocer la integridad del DNA se realizaron corridas electroforéticas en gel de agarosa al 1%. Para ello se tiñó el material genético con SYBR safe DNA gel stain (Invitrogen). Las corridas electroforéticas tuvieron una duración de 30 minutos con una corriente de 100V. Se utilizó 1 µl de marcador de peso molecular de 100 pb CLS-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU®. Al terminar la corrida el gel se analizó con el transiluminador-fotodocumentador.

Extracción de RNA

Para obtener RNA de las muestras se utilizó el método de Trizol. Para ello se tomaron 50 µl del sedimento de la muestra (previamente centrifugada) que se colocaron en un tubo Eppendor® y se agregaron 500 µl de trizol. Se homogenizó y se incubó por 5 minutos a una temperatura de 15-30°C. Pasado el tiempo se adicionaron 100 µl de cloroformo, se agitó vigorosamente por 15 segundos y se incubó nuevamente por 3 minutos a una temperatura de 15-30°C. Posteriormente se centrifugó a 11000 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 4°C. Se separó la parte acuosa y se transfirió a otro tubo en el que se agregó 250 µl de isopropanol y se incubó 10 minutos, nuevamente a una temperatura de 15-30°C. Se centrifugó por 4 minutos a 11000 rpm y se eliminó el sobrenadante. Se lavó el pellet con 400

μl de etanol al 75%, se centrifugó a 11000 rpm y se desechó el sobrenadante. Se repitió el proceso de lavado una vez más y se dejó secar el pellet al aire. Para redissolver se agregaron 30 μl de agua libre de nucleasas.

Pool de RNA

Una vez obtenido el RNA de cada una de las muestras se hizo una cuantificación para conocer la cantidad exacta de RNA obtenido. La cuantificación se realizó por espectrofotometría en un espectrofotómetro de placas Epoch® en el cual se colocó 1μl de la muestra en cada pocillo y se leyó a una longitud de onda 230/260 nm. Una vez que se tuvieron las concentraciones de todas las muestras se realizaron las diluciones necesarias para obtener una concentración de 20ng/μl en todas las muestras. Posteriormente se tomaron 5μl de cada muestra y se concentraron en un solo tubo para obtener el pool de RNA.

RT-qPCR en tiempo real

En primer lugar, se realizó la síntesis de cDNA. En un tubo para PCR se colocaron 8μl del pool de RNA, y se agregaron de 1μl de oligo DT y 1μl de dNTP's. Se incubó a 65°C por 5 minutos y posteriormente a 4°C por 1 minuto. Se adicionó 4μl de buffer, 4μl de MgCl₂, 2μl de DTT [0.1M] y 1μl de RNAsa y se incubó a 42°C por 2 minutos. Finalmente, se agregó 1μl de RT-enzima y metió al termociclador 50 minutos a 42° y 15 minutos a 72°C. Una vez pasado el tiempo se conservó en congelación.

Para realizar la PCR se utilizaron los siguientes iniciadores para cada una de las enzimas:

Tabla 4. Secuencia de los primers utilizados en la PCR

ENZIMA	PRIMER	AMPLICÓN
SOD	Forward: CAGGGCATCAATTTCTGA Reverse: TGCTTCCCACACCTTCAC	150pb
CAT	Forward: CTGGAGAAGTGCGGAGATTCA Reverse: AATGCCCGCACCTGAGTAAC	150pb
GAPDH	Forward: CGGACTTCCTCGGTGATACC Reverse: CAATGCCGGCCTTAGCAT	150pb

Se prepararon por triplicado las mezclas de reacción, una para cada una de las enzimas (SOD, CAT y GAPDH) de acuerdo con las cantidades de la siguiente tabla:

Tabla 5. Mezcla de reacción para la amplificación de las enzimas antioxidantes

REACTIVO	CANTIDAD (μL)
SYBRgreen PCR Master Mix	6.25
Iniciador sentido	1.25
Iniciador antisentido	1.25
Agua grado biología molecular	1.75
cDNA muestra	2.0
Total por reacción	12.5

Finalmente, se metieron los tubos de reacción al termociclador bajo las siguientes condiciones:

Tabla 6. Condiciones de amplificación para enzimas antioxidantes

NÚMERO DE CICLOS	TIEMPO	TEMPERATURA
1	10 min	95°C
40	15s	95
	1 min	60

Análisis estadístico para la degradación de DNA

Para el análisis de la degradación del DNA a partir de la observación en los geles de agarosa, se generó una relación proporcional para determinar si existe una diferencia entre los valores de genotoxicidad correspondientes a los meses 0 (**T0**), 6 (**T1**) y 9(**T2**) después del tratamiento con ortodoncia.

También, se realizó la prueba estadística McNemar, la cual es una prueba estadística no paramétrica de comparación de proporciones (Coronel-Carvajal, 2020), para determinar las diferencias significativas en la degradación del DNA a lo largo del tratamiento. Para ello se utilizó el software estadístico SSPS.

Análisis de expresión génica de enzimas SOD y CAT

Para el análisis de la expresión génica se utilizó un ensayo de cuantificación relativa por el método de Ct ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) (Livak y Schmittgen, 2001) para ello los datos fueron analizados con ayuda de Microsoft Excel. La expresión génica fue calculada usando la siguiente ecuación.

$$\Delta\Delta C_T = (C_{T,Objetivo} - C_{T,GAPDH})_{TiempoX} - (C_{T,Objetivo} - C_{T,GAPDH})_{Tiempo0}$$

En donde: T0 representa el tiempo antes de iniciar el tratamiento, TX representa cualquier otro tiempo a evaluar.

Además, se realizó una prueba de varianza para determinar si la diferencia entre los niveles de expresión en los tiempos analizados es significativa.

Resultados

A continuación, se presentan los resultados de los análisis de las muestras, en necesario señalar, que debido a la pandemia de COVID-19, muchos de los pacientes no asistieron a la cita odontológica después de 6 meses quedándose, finalmente, solo con 28 muestras y tres pacientes abandonaron el estudio por lo que a los 9 meses solo se obtuvieron 47 muestras.

Evaluación de degradación de DNA por electroforesis en gel de agarosa

Para evaluar la degradación del DNA se realizaron electroforesis en gel de agarosa al 1% en el **T0** (mes 0), **T1** (mes 6) y **T2** (mes 9) con las muestras obtenidas mostradas en la imagen 5, 6 y 7 respectivamente. Además, se muestran los resultados de la degradación de las en los diferentes tiempos en las tablas 7 (**T0**), 8 (**T1**) y 9 (**T2**). Se observa un aumento de la degradación del material genético en **T2** con respecto a **T0** y **T1**.

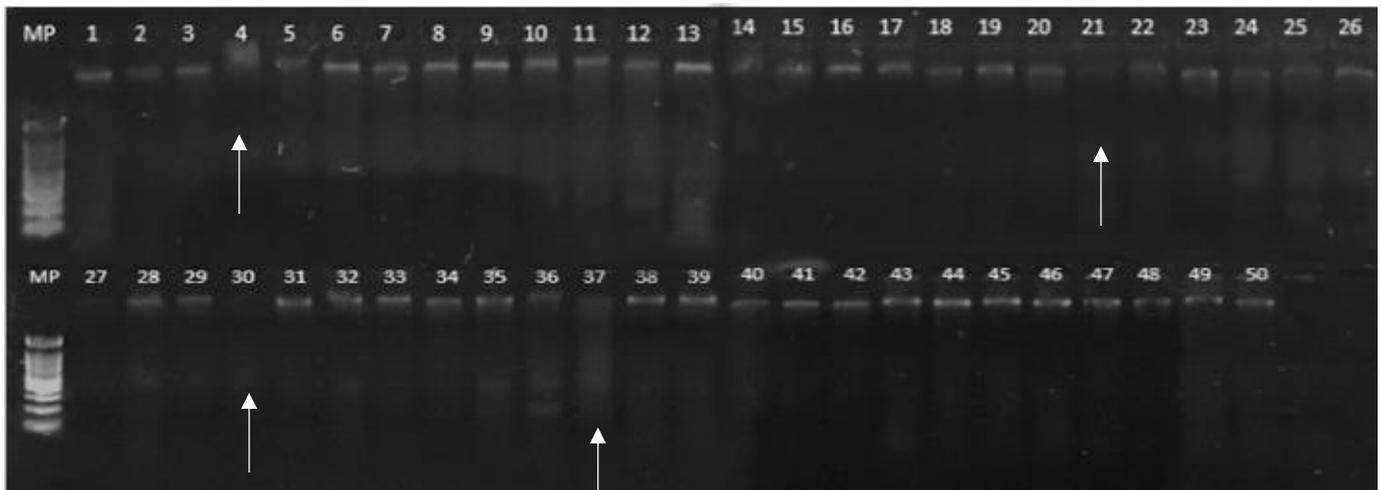


Imagen 4. Gel de la integridad del DNA antes del tratamiento (T0). Gel de agarosa al 1%, en el carril MP se observa el marcador de peso molecular, mientras que en los carriles 1-50 se observa el DNA de las muestras utilizadas. Se puede observar una degradación en las muestras de los carriles 4, 21, 30 y 37. (Señaladas en la imagen con la flecha)

Tabla 7. Degradación del DNA en la electroforesis antes de la colocación del aparato de ortodoncia (T0)

No. Muestra	Degradación	No. Muestra	Degradación
1		27	<i>Total</i>
2		28	Parcial
3		29	
4	<i>Total</i>	30	<i>Total</i>
5		31	
6		32	Parcial
7		33	
8		34	
9		35	Parcial
10		36	Parcial
11	Parcial	37	<i>Total</i>
12	Parcial	38	Parcial
13	Parcial	39	Parcial
14	<i>Total</i>	40	
15		41	
16		42	
17		43	Parcial
18		44	Parcial
19		45	Parcial
20		46	Parcial
21	<i>Total</i>	47	
22	Parcial	48	
23	Parcial	49	
24	Parcial	50	
25	Parcial		
26			

Los espacios en blanco indican que no hubo degradación de la muestra. La degradación total se observó como ausencia de banda de elevado tamaño molecular, mientras que la degradación parcial se observó como una mancha a lo largo del carril

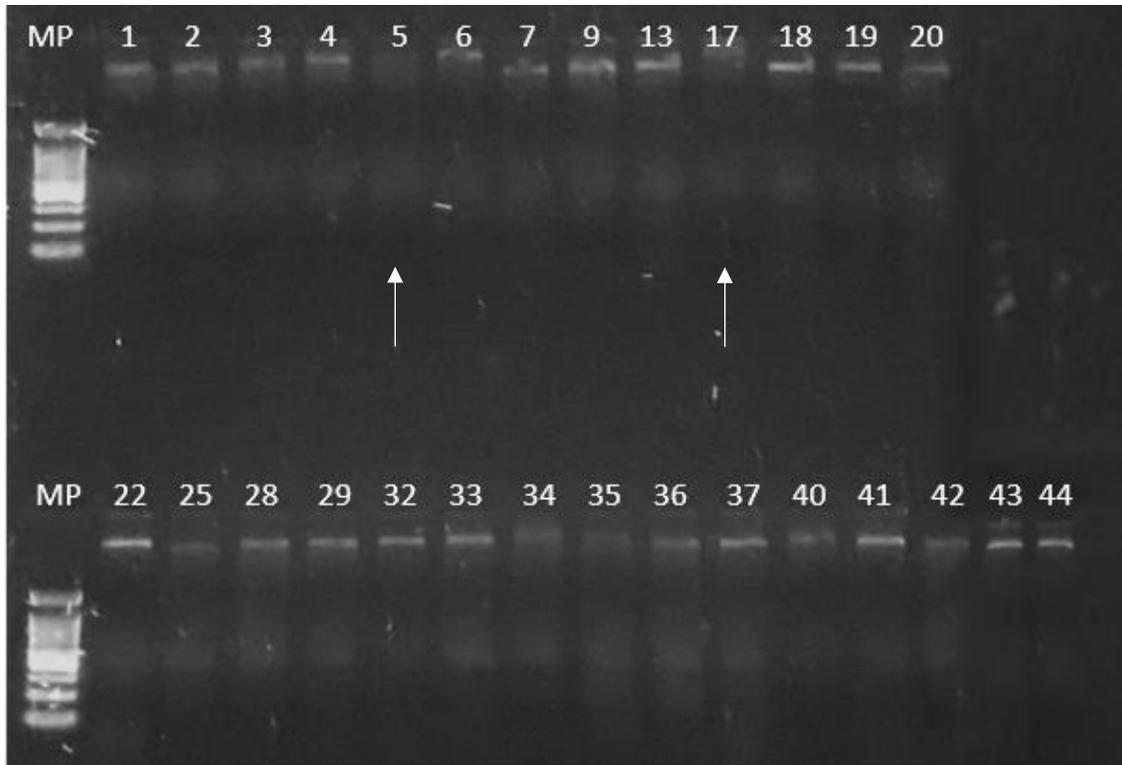


Imagen 5. Gel de la integridad del DNA a los 6 meses de haber iniciado el tratamiento (T1). Gel de agarosa al 1%, en el carril MP se observa el marcador de peso molecular y se observa degradación total en las muestras de los carriles 5 y 17(señaladas en la imagen con la flecha) mientras que en la demás muestras se puede observar una degradación parcial.

Tabla 8. Degradación del DNA en la electroforesis a los 6 meses de la colocación del aparato de ortodoncia (T1)

No. Muestra	Degradación	No. Muestra	Degradación
1	Parcial	28	Parcial
2	Parcial	29	Parcial
3	Parcial	32	Parcial
4	Parcial	33	Parcial
5	Total	34	Parcial
6	Parcial	35	Parcial
7	Parcial	36	Parcial
9	Parcial	37	Parcial
13	Parcial	40	Parcial
17	Total	41	Parcial

18	Parcial	42	Parcial
19	Parcial	43	Parcial
20	Parcial	44	Parcial
22	Parcial		
25	Parcial		

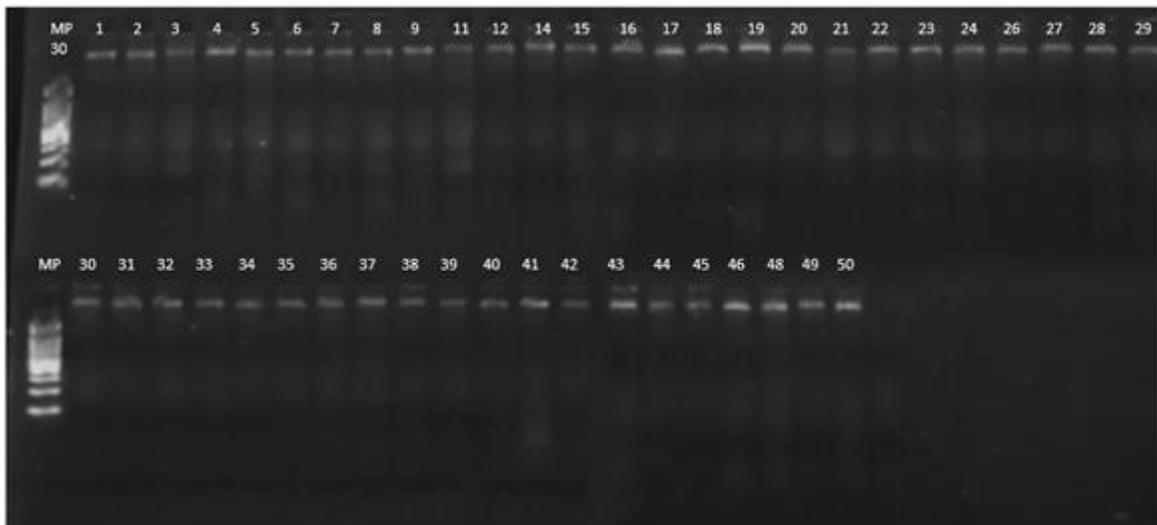


Imagen 6. Gel representativo de la integridad del DNA a los 9 meses de haber iniciado el tratamiento (T2). Gel de agarosa al 1%, en el carril MP se observa el marcador de peso molecular y se nota degradación parcial en las demás muestras.

Tabla 9. Degradación del DNA en la electroforesis a los 9 meses de la colocación del aparato de ortodoncia (T2)

No. Muestra	Degradación	No. Muestra	Degradación
1	Parcial	30	Parcial
2	Parcial	31	
3	Parcial	32	Parcial
4	Parcial	33	Parcial
5	Parcial	34	Parcial
6	Parcial	35	Parcial
7	Parcial	36	Parcial
8	Parcial	37	Parcial

9	Parcial	38	
11	Parcial	39	Parcial
12	Parcial	40	
14	Parcial	41	Parcial
15	Parcial	42	
16	Parcial	43	Parcial
17	Parcial	44	
18	Parcial	45	
19	Parcial	46	Parcial
20	Parcial	48	Parcial
21	Parcial	49	
22	Parcial	50	Parcial
23	Parcial		
24	Parcial		
25	Parcial		
27	Parcial		
28	Parcial		
29	Parcial		

Con base en los resultados de las electroforesis, se realizó un análisis para conocer la proporción de la degradación de las muestras de DNA como se presenta en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Proporción de degradación de DNA

Tiempo de toma	T0	T1	T2
Número de muestras	50	28	47
Número de muestras con presencia de degradación	23 (46.0 %)	28 (100%)	40 (85.1%)
Número de muestras con ausencia de degradación	27 (54.0%)	0	7 (14.89%)

Para conocer las diferencias significativas de la degradación del DNA a lo largo del tratamiento, se obtuvieron los siguientes resultados en la cual se observa que no hay una diferencia estadísticamente significativa, sin embargo, al comparar los resultados obtenidos a los 9 meses (Tabla 13), se obtiene una diferencia significativa en la degradación del DNA:

Tabla 11. Datos cruzados para las muestras antes del tratamiento y 6 meses después del tratamiento.

		Seis meses después del tratamiento		Total
		Muestras con degradación		
Antes del tratamiento	Muestras sin degradación	16	57.1%	16
	Muestras con degradación	12	42.9%	12
		28	100%	28
				100%

Tabla 12. Datos cruzados para las muestras antes del tratamiento y 9 meses después del tratamiento.

		Nueve meses después de tratamiento		Total
		Muestras sin degradación	Muestras con degradación	
Antes del tratamiento	Muestras sin degradación	2	21	23
	Muestras con degradación	5	18	23
		7	39	46
		15.2%	84.8%	100%

Tabla 13. Prueba de McNemar para muestras a los seis y nueve meses después de iniciar el tratamiento.

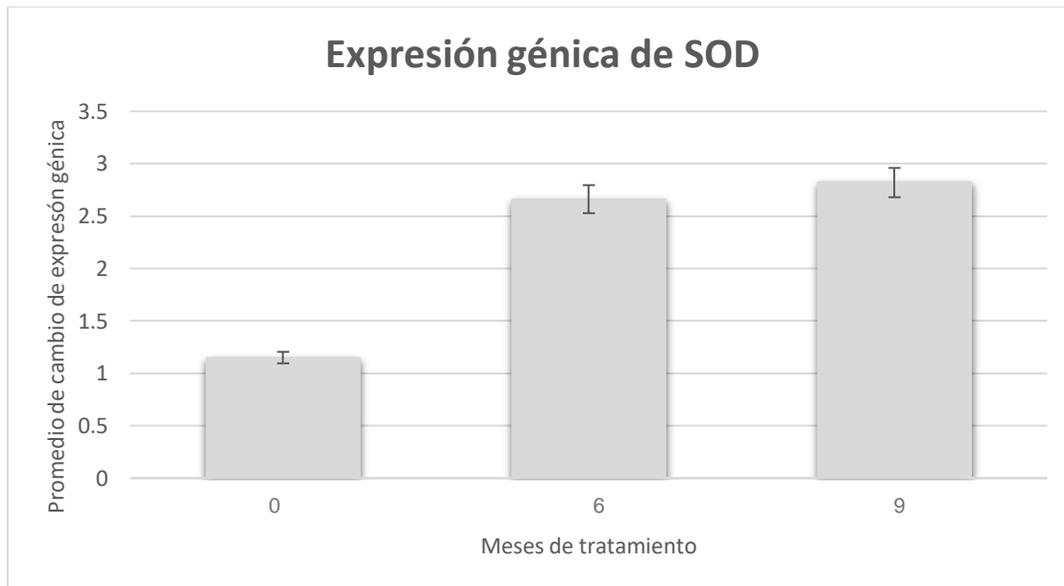
	Valor	gl	Significancia
Antes del tratamiento vs seis meses después del tratamiento	28	1	---
Antes del tratamiento vs nueve meses después del tratamiento	46	1	0.002

Modulación de enzimas antioxidantes

En Tabla 14, se presenta el análisis de los datos de Ct obtenidos para evaluar el cambio de la expresión génica relativa del gen SOD utilizando el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ en relación con el gen de control interno GAPDH. Además, en la gráfica 1 se muestran los niveles de expresión del mismo gen en los meses 0, 6 y 9.

Tabla 14. Análisis del cambio de expresión relativa del gen SOD

Gen	Tiempo (mes)	CT	Gen endógeno	Tiempo (mes)	CT	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Promedio de cambio de la expresión génica
SOD	0	34.89	GAPDH	0	37.81	-2.92	-0.775	1.71119005	1.1
SOD	0	35.3	GAPDH	0	36.67	-1.37	0.775	0.58438862	
SOD	6	34.2	GAPDH	6	38.24	-4.04	-1.895	3.71921977	2.7
SOD	6	35.3	GAPDH	6	38.12	-2.82	-0.675	1.59659677	
SOD	9	34.1	GAPDH	9	38.47	-4.37	-2.225	4.67510899	2.8
SOD	9	35.37	GAPDH	9	37.45	-2.08	0.065	0.95594532	



Gráfica 1. Niveles de expresión génica de la enzima antioxidante superóxido dismutasa

En las tablas 15 y 16 se muestra el análisis estadístico en las que se evalúa la desviación estándar y la diferencia estadística al comparar los niveles de expresión en los tiempos determinados, respectivamente para el gen SOD.

Tabla 15. Estadísticos descriptivos de del cambio de expresión relativa del gen SOD

	N	Mínimo	Máximo	Media		Desviación estándar
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error estándar	Estadístico
SOD antes del tratamiento	2	0.58	1.71	1.1478	0.56340	0.79677
SOD mes 6	2	1.60	3.72	2.6579	1.06131	1.50092
SOD mes 9	2	0.96	4.68	2.8155	1.85958	2.62985

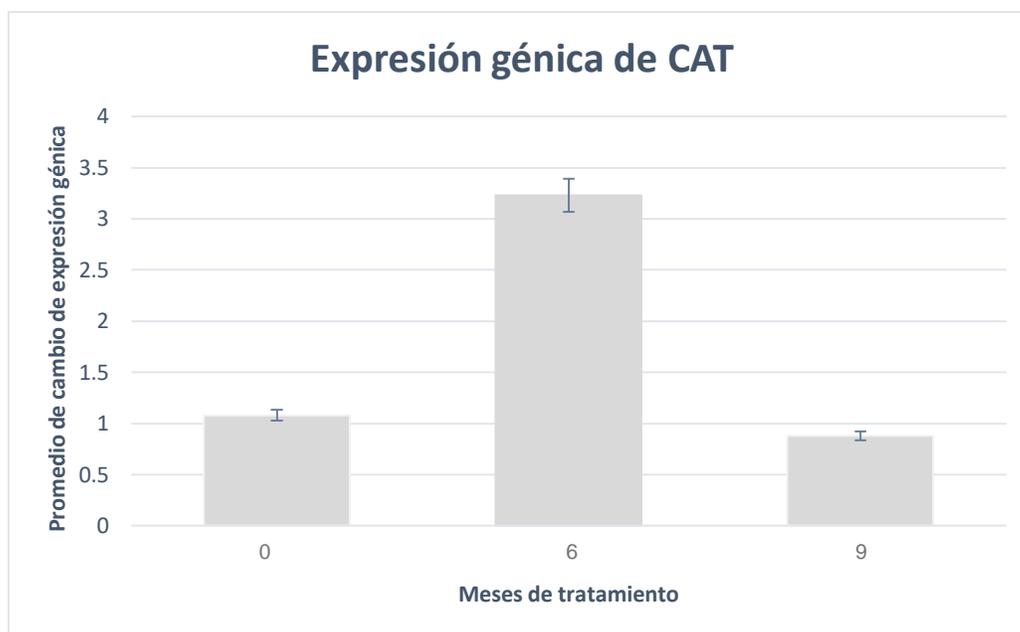
Tabla 16. Prueba de contrastes para enzima SOD

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significancia
SOD antes versus SOD 6 meses	4.561	1	4.561	9.199	0.203
SOD 6 meses versus SOD 9 meses	0.050	1	0.050	0.039	0.876

En la Tabla 17, se presentan los resultados del análisis de los datos de Ct obtenidos para evaluar el cambio de la expresión génica relativa del gen CAT utilizando el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ en relación con el gen de control interno GADPH. También se muestra en la gráfica 2, los niveles de expresión del mismo gen en los meses 0, 6 y 9.

Tabla 17. Análisis del cambio de expresión relativa del gen CAT

Gen	Tiempo (mes)	CT	Gen Endógeno	Tiempo (mes)	CT	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Promedio de cambio de la expresión génica
CAT	0	36.48	GADPH	0	37.81	-1.33	-0.57	1.48452357	1.08
CAT	0	36.48	GADPH	0	36.67	-0.19	0.57	0.67361679	
CAT	6	35.73	GADPH	6	38.24	-2.51	-1.75	3.36358566	3.23
CAT	6	35.73	GADPH	6	38.12	-2.39	-1.63	3.09512999	
CAT	9	37.48	GADPH	9	38.47	-0.99	-0.23	1.17283495	0.88
CAT	9	37.48	GADPH	9	37.45	0.03	0.79	0.57834409	



Gráfica 2. Niveles de expresión génica de la enzima antioxidante catalasa

En las tablas 18 y 19 se muestra el análisis estadístico en las que se evalúa la desviación estándar y la diferencia estadística al comparar los niveles de expresión en los tiempos determinados, respectivamente para el gen CAT.

Tabla 18. Estadísticos descriptivos del cambio de expresión relativo de CAT

	N	Mínimo	Máximo	Media		Desviación estándar
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error estándar	Estadístico
CAT antes del tratamiento	2	0.67	1.48	1.0791	0.40545	0.57340
CAT mes 6	2	3.10	3.36	3.2294	0.13423	0.18983
CAT mes 9	2	0.58	1.17	0.8756	0.29725	0.42037

Tabla 19. Prueba de contrastes para enzima CAT

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significancia
CAT antes versus CAT 6 meses	0.083	1	0.083	3.536	0.311
CAT 6 meses versus CAT 9 meses	11.080	1	11.080	208.477	0.044

En cuanto a la enzima SOD, se observa un aumento de la expresión génica en los meses 6 y 9. (Tabla 11, Gráfica 1). En el mes 6 se observa que la expresión aumentó, en promedio, 2.7 veces tomando como referencia el mes 0. Por otro lado, se observa que en el mes 9 hubo un aumento de 2.8 veces en la expresión de esa misma enzima. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico se observa que no hubo una diferencia significativa en los cambios de niveles de expresión (Tabla 19).

Respecto a la enzima CAT se observa que en el mes 6 hay un aumento de 3.2 veces, en promedio, de la expresión génica, sin embargo, en el mes 9 se puede notar un nivel de expresión similar a la obtenida en el mes 0. (Tabla 14, Gráfica 2). Además, al realizar el análisis estadístico (Tabla 16) se observa que hubo un cambio significativo en la disminución del nivel de expresión genético del mes 6 al mes 9.

Análisis de resultados

Las maloclusiones dentales que se caracterizan por presentar un contacto incorrecto entre los dientes de la arcada superior e inferior son un problema de salud oral que perjudica a personas a nivel mundial creando problemas funcionales y estéticos. Para el tratamiento de este tipo de problemas, se utilizan aparatos de ortodoncia fijos (AOF) como lo son los brackets o arcos metálicos.

En la actualidad, existe una gran gama de materiales con los cuales se elaboran estos aparatos, sin embargo, es necesario evaluar su biocompatibilidad ya que la mayoría de ellos presentan materiales metálicos como su principal componente. Por lo tanto, determinar los posibles riesgos que conlleva el uso de tratamiento ortodóncico es de suma importancia.

La biocompatibilidad se refiere a la respuesta reproducible del tejido biológico con respecto a aquellos materiales ajenos al organismo, pues también puede generar efectos perjudiciales además de los efectos beneficiosos que se buscan. En cuanto a los AOF, se pueden realizar estudios de biocompatibilidad como son pruebas de irritabilidad a la mucosa, pruebas de citotoxicidad y genotoxicidad

La genotoxicidad causada por el uso AOF, como los brackets, es uno de los efectos dañinos que puede causar este tipo de tratamientos. Esto se debe a que los metales de los cuales están compuestos se encuentran en contacto directo con la mucosa bucal durante todo el tiempo que dura el tratamiento, que en promedio es de 2 años.

Diversos estudios que se han realizado tanto *in vitro* como *in vivo* han evaluado la liberación de iones metálicos por los brackets, esto se debe principalmente, a que la cavidad bucal proporciona los medios necesarios para que ocurra el proceso de corrosión de los metales, debido a que se encuentran bajo un cambio constante de pH causada por los diversos alimentos ingeridos, además de encontrarse bajo el ambiente producido por los microorganismos que se encuentran en la mucosa oral, así como el cambio de temperatura y la gran cantidad de enzimas que ahí se localizan (Faccioni *et al*, 2003).

Faccioni en 2003, demostró que la cantidad de iones de níquel y cobalto en las células de la mucosa oral se encontraban significativamente mayores en pacientes que habían estado usando diferentes tipos de aparatos de ortodoncia fijos compuestos de aleaciones metálicas durante un periodo de 2 a 4 años con respecto al grupo control.

Por otro lado, Hafez y colaboradores, en 2011, publicó que aparte del níquel, los pacientes con aparatos de ortodoncia también presentan una mayor concentración de los niveles de cromo, a diferencia de los pacientes del grupo control que no habían usado ningún tipo de AOF.

La mayoría de los estudios que han evaluado la toxicidad causada por el uso de AOF se centran en la liberación de iones de níquel, cromo y cobalto, pues se ha demostrado que son la causa principal de toxicidad (Bandeira, 2017) además, de que son los materiales metálicos

más abundantes en las aleaciones de ortodoncia que se usan con mayor regularidad (Hafez *et al*, 2011).

Por lo que podemos decir que se cuenta con evidencia para afirmar que los aparatos de ortodoncia liberan iones metálicos en el tejido de la mucosa oral, asimismo, existe evidencia que estos absorben los iones metálicos y puede producir efectos por acumulación de estos metales (Hafez *et al*, 2011). Además, en este estudio se utilizaron brackets Dentaurum específicamente de la línea Equilibrium®, los cuales contienen níquel y cromo entre sus componentes.

El daño al material genético puede deberse a la fragmentación del DNA provocado por la interacción directa de los iones metálicos. También, se sabe que cuando existe un daño al DNA, se activan los mecanismos de reparación, sin embargo, al mantenerse la presencia de los iones metálicos, también persiste el daño al DNA (Hafez *et al*, 2011). Además, la genotoxicidad también puede deberse a la estimulación de la respuesta inflamatoria, a alteraciones en mecanismos oxidativos o a un aumento en la peroxidación lipídica (Martín-Cameán, 2015). En este estudio se evaluó el efecto genotóxico que se puede presentar al estar en tratamiento con AOF, para lo que se utilizaron células de la mucosa oral de 50 pacientes para los diferentes tipos de análisis.

Para demostrar la genotoxicidad por metales, habitualmente se utilizan ensayos de micronúcleos y ensayo cometa o en gel unicelular para detectar daños al DNA como roturas de hebras, sitios lábiles o sitios de reparación por escisión incompleta (Faccioni *et al*, 2003).

En este estudio se propuso utilizar el ensayo de electroforesis en gel de agarosa para demostrar el daño al DNA y observar su efectividad, pues presenta diversas ventajas sobre los otros ensayos en cuanto al precio, el equipo necesario y el tiempo de manipulación y análisis de resultados. Generalmente la aplicación del ensayo de electroforesis en gel de agarosa se utiliza para la separación de fragmentos de ácidos nucleicos y su visualización, así como para comprobar el tamaño de los fragmentos y la concentración (Fierro, 2014). Sin embargo, también se utiliza para conocer la integridad del DNA evaluando la definición de la banda predominante y el acompañamiento de una estela a lo largo del gel.

Los resultados obtenidos demostraron que existe una mayor proporción de degradación a los 6 meses (T1) de haber iniciado el tratamiento y aún mayor proporción de degradación a los 9 meses (T2) en comparación con los resultados obtenidos en el T0 del tratamiento. Además, de acuerdo con el análisis estadístico realizado, podemos notar que existe una diferencia significativa en la degradación del DNA a los 9 meses comparado con las muestras obtenidas antes del tratamiento (Tabla 13). Este resultado se relaciona con la concentración de iones metálicos liberado, pues a un mayor tiempo de contacto con el tejido bucal, existe una mayor acumulación de estos iones.

Estos resultados concuerdan con los resultados reportados por Hafez y colaboradores en 2011 donde mostraron que los pacientes que estaban siendo tratados con algún AOF presentaban mayor daño al DNA con el ensayo cometa, observando una mayor migración del material genético y una mayor formación de cometas, sin embargo, obtuvieron estos resultados a los 3 meses del tratamiento. Por otro lado, Faccioni y colaboradores, también sugirieron daños

al DNA después del tratamiento con aparatos ortodóncico sugiriendo una correlación entre el tiempo de exposición y el daño al DNA.

Sumado a esto, los iones metálicos también pueden tener un efecto genotóxico indirecto, por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) provocando daño oxidativo al DNA (Zukowski *et al*, 2018) creando sitios apurínicos o apirimídicos, además de generar rupturas de la doble cadena del DNA (Zorrilla *et al*, 2004).

El nivel de expresión génica de algunas enzimas antioxidantes como lo son SOD y CAT se puede relacionar con la producción de ROS a causa de la presencia de iones metálicos ya que la sobreproducción de estas especies puede generar estrés oxidativo. Al haber un estrés oxidativo el organismo necesita contrarrestarlo con una mayor síntesis de antioxidantes y existe evidencia que es una de las respuestas biológicas principales al tratamiento de ortodoncia (Buczko, 2018).

En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio se observó un aumento en la expresión génica del gen superóxido dismutasa 2.7 veces más en el mes 6 y 2.8 veces más en el mes 9 en comparación a los niveles de expresión antes del tratamiento. Se sabe que la generación de ROS se ve compensado con la acción de enzimas antioxidantes. En este caso, la sobreexpresión de SOD puede deberse a la necesidad de contrarrestar la gran cantidad de ROS en la cavidad oral, es por ello que a medida que pasa el tiempo del tratamiento con los aparatos de ortodoncia es decir, a una mayor acumulación de iones metálicos existe una mayor producción de ROS y en consecuencia mayor necesidad de enzimas antioxidantes SOD (Olalla *et al*, s.f.). Sin embargo, al realizar un análisis estadístico (Tabla 16), se obtiene que no existe una diferencia significativa en los cambios de expresión a lo largo del tratamiento.

Por otro lado, con respecto a los resultados de la enzima catalasa, hubo un aumento de 3.2 veces más con respecto al mes 0, mientras que en el mes 9 hubo una expresión similar a los resultados obtenidos en el mes 0. Además, al realizar el análisis estadístico (Tabla 19) se observa que hubo una diferencia significativa en el cambio de expresión del mes 6 al mes 9. Asimismo, estos resultados sugieren que pudo haber desarrollado un sistema adaptativo a las condiciones de estrés oxidativo por lo que no hubo necesidad de producir mayor cantidad de enzimas antioxidantes CAT con el paso del tiempo.

En 2017, Santa-González y colaboradores demostraron que al someter las células a una concentración constante de H₂O₂ durante un tiempo prolongado y constante conduce a la adaptación causada por estrés oxidativo crónico y modulan los patrones de expresión génica, pues los ROS actúan, en este caso, como moléculas de señalización.

Aunque no se cuenta con evidencia experimental sobre la regulación de expresión génica de catalasa en condiciones de estrés oxidativo los resultados de este estudio pudieran dar un avance importante en la comprensión de los procesos adaptativos que se llevan a cabo en la célula.

Los resultados de la expresión de ambas enzimas antioxidantes sugieren un efecto diferencial por parte de las ROS provocando cambios distintos en los niveles de expresión de ambas

enzimas, pues se ha demostrado que las ROS influyen en la expresión en los diferentes niveles, como transcripción, postranscripción y traducción (Rodríguez *et al*, 1999).

Cabe mencionar que, aunque los estudios *in vivo* tienen la gran ventaja de explicar cómo reacciona el tejido en condiciones reales, tienen la desventaja de que la interpretación de los resultados suele ser difícil, pues existen muchos factores que no están bajo control experimental.

Finalmente, es preciso señalar que se necesita realizar un mayor número de estudios para determinar los posibles daños al organismo causados por el uso de aparatos de ortodoncia, a causa de su tiempo tan prolongado de contacto con la cavidad bucal con el propósito de buscar mejores alternativas en el tratamiento y mejorar la biocompatibilidad de este tipo de instrumentos y así minimizar los daños que el paciente pueda presentar a lo largo del tratamiento.

Conclusión

Se observó que el uso de aparatos ortodóncicos puede ser causa de genotoxicidad en pacientes con este tratamiento, pues los resultados de la degradación genética observada en la electroforesis indican una mayor degradación con respecto al tiempo de exposición.

Además, se observó un cambio en la expresión génica relativa en las enzimas antioxidantes SOD y CAT, pues con respecto a SOD hubo una sobreproducción de la enzima, mientras que con la enzima CAT se observó un aumento seguido de nivel de expresión similar a la inicial lo que sugiere un posible proceso adaptativo de las células ante el estímulo constante de las especies reactivas de oxígeno.

Referencias

- Abdallah, M; Lou, T; Retrouvey, J; Suri, S. (2019) *Biomaterials used in orthodontics: brackets, archwires, and clear aligners. Advanced Dental Biomaterials.* (541-579) Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102476-8.00020-7>.
- Actis, A. (2014) *La cavidad bucal, centro de variadas funciones.* Sistema Estomatognático. Editorial médica panamericana. http://bibliotecas.unr.edu.ar/muestra/medica_panamericana/9789500603034.pdf
- Bal, W., Protas, A., Kasprzak, K. (2011). *Genotoxicity of Metal Ions: Chemical Insights. Metal Ions in Toxicology: Effects, Interactions, Interdependencies.* doi:10.1515/9783110436624-018
- Bandeira, R., Coser, E., Pérez, A., Tarkany, R. (2017) *Salivary levels of nickel, chromium, iron, and copper in patients treated with metal or esthetic fixed orthodontic appliances: A retrospective cohort study.* Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 40. 67:71 <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.12.011>.
- Buczko, P (2017) *Orthodontic treatment modifies the oxidant–antioxidant balance in saliva of clinically healthy subjects,* Advances in Medical Sciences, 62 (1) 129-135
- Buczko, P., Kasacka, I., Pawlak, D. (2018) *An important pathway of apoptotic effect of nickel early released from orthodontic appliances – Preliminary data.* Pharmacological Reports. 70(4) 766:768 <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.02.019>
- Buczko, P; Knaś, M; Grycz, M; Szarmach, I; Zalewska, A. (2017) *Orthodontic treatment modifies the oxidant–antioxidant balance in saliva of clinically healthy subjects.* Advances in Medical Sciences. 62(1) 129-135 <https://doi.org/10.1016/j.advms.2016.11.004>.
- Circus orthodontic (2020) *Orthodontic treatment: Fixed appliances* <http://www.circusorthodontics.co.uk/fixed-appliances-bath.html>
- Coronel-Carvajal, C. (2020) *Forma correcta de presentar los datos y uso de McNemar en las intervenciones educativas.* Archivo Médico Camagüey. <http://www.revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/6819>
- Cruchley A.T., Bergmeier L.A. (2018) *Structure and Functions of the Oral Mucosa. Oral Mucosa in Health and Disease.* Springer, Cham. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/978-3-319-56065-6_1
- Díaz, A. (2003) *La estructura de las catalasas.* REB 22(2): 76-84 http://www3.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/2003-2_LA%20ESTRUC_.pdf
- Doak, S; Liu Y; Chen, C. (2017) *Genotoxicity and Cancer. Adverse Effects of Engineered Nanomaterials* 423:445. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809199-9.00018-5>.

- Faccioni F., Franceschetti, P., Cerpelloni, M., Fracasso, M. (2003) *In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells*. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 124(6) 687:694 <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2003.09.010>.
- Fierro, F (2014) *Electroforesis de DNA*. En Romero, A., Serrato, A., Rendón, B., Rocha. M. (Eds.) Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/\\$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf)
- Flora, G., Mittal, M., Flora, S. (2015) *Medical Countermeasures-Chelation Therapy Handbook of Arsenic Toxicology* (589-626) Academic Press <https://doi.org/10.1016/C2013-0-08322-3>
- García B, García O, Clapes S, Rodes L, García JC. (1997) *Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I. Superóxido dismutasas*. Trabajos de Revisión. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Revista Cubana de Investigación Biomédica. 14(1):10-15. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001995000100001
- García, V., Ustrell, J., Sentris, J. (2011) *Evaluación de la maloclusión, alteraciones funcionales y hábitos orales en una población escolar: Tarragona y Barcelona* Avances en odontoestomatología (27)2: 75-84 <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v27n2/original2.pdf>
- Glubb, D., Innocenti, F. (2010). *Mechanisms of genetic regulation in gene expression: examples from drug metabolizing enzymes and transporters*. Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine, 3(3), 299–313. doi:10.1002/wsbm.125
- Hafez, H., Selim, E., Kamel, E., Tawfik, W., Al-Ashkar, E., Mostafa, Y. (2011) *Cytotoxicity, genotoxicity, and metal release in patients with fixed orthodontic appliances: A longitudinal in-vivo study*. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 140(3) 298-308. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2010.05.025>.
- Hernández, A; Vasallo, M; Torres, A; Salido, E. (1994) *Análisis del RNA: Estudio de la expresión génica*. Nefrología. 14(2) 145-162
- Hernández-Franco, P., Valverde, M. & Rojas, E. (2009) *Los metales como inhibidores del sistema de reparación del DNA*. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 12(2) 75-82. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v12n2/1405-888X-tip-12-02-75.pdf>
- Ighodaro, O. M; Akinloye, O.A. (2018) *First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid*. Alexandria Journal of Medicine. 54(4) 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- Livak, K., Schmittgen, T. (2001) *Analysis or relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the method*. Methods. 25(4) 402:408. doi:10.1006/meth.2001.1262

- Malan, V, Romana, S. (2015) *Diagnóstico de las anomalías cromosómicas en patología constitucional*. Tratado de Medicina (19)2 1-8 [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(15\)70955-4](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(15)70955-4).
- Małkiewicz, K. (2018) *Comparative assessment of the corrosion process of orthodontic archwires made of stainless steel, titanium–molybdenum and nickel-titanium alloys*. Archives of Civil and Mechanical Engineering. 18(3), 941-947 <https://doi.org/10.1016/j.acme.2018.01.017>.
- Mandal, A. (2019) *What is Oxidative Stress*. News Medical Life Sciences & Medicine <https://www.news-medical.net/health/What-is-Oxidative-Stress.aspx>
- Mariaca, J., Zapata, M., Uribe, P. (2016) *Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias* Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica (24)3:162-173 https://revistasocolderma.org/sites/default/files/oxidacion_y_antioxidantes_hechos_y_controversias.pdf
- Martín-Cameán, A., Jos, A., Cameán, A. M., Solano, E., & Iglesias-Linares, A. (2015). *Genotoxic and cytotoxic effects and gene expression changes induced by fixed orthodontic appliances in oral mucosa cells of patients: a systematic review*. Toxicology Mechanisms and Methods, 25(6), 440–447. doi:10.3109/15376516.2015.1062951
- Mateos, D. (2006) *Sistemas regulatorios de la expresión génica*. (Tesis de posgrado) Universidad de Sevilla, España. <http://www.lsi.us.es/docs/doctorado/memorias/Memoria-Invest-DMateosGarcia.pdf>
- Mayor, R. (2010) *Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante*. Revista del Instituto de Medicina Tropical 5(2):23-29 <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>
- Merino, J., Noriega, M. (s.f.) *Regulación de la expresión genética*. Fisiología general. Universidad de Cantabria. <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25208-Bloque%2520I-Regulacion%2520Genetica.pdf>
- Nabeel, F., Talic, H., Alnahwi, S. (2013) *Nickel and chromium levels in the saliva of a Saudi sample treated with fixed orthodontic appliances*. The Saudi Dental Journal. (25)4 126:133 <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2013.10.001>.
- Nachtomy, O., Shavit, A., & Yakhini, Z. (2007). *Gene expression and the concept of the phenotype*. Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences, 38(1), 238–254. doi:10.1016/j.shpsc.2006.12.014
- Nygaard, V, Hovig, E. (2009). *Methods for quantitation of gene expression*. Frontiers in Bioscience, (14)1, 552:569. doi:10.2741/3262
- Olalla, L., Matés, J. (s.f.) *Radicales libres de oxígeno y enzimas antioxidantes*. Universidad de Málaga. <http://www.encuentros.uma.es/encuentros56/radicales.html>
- Pisoschi A, Pop A, Iordache F, Stanca L, Predoi G, Serban A. (2021) *Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health*

- status*. European Journal of Medicinal Chemistry, 112891. doi:10.1016/j.ejmech.2020.112891.
- Proffit, W., Fields, H., Larson, B., Sarver, D. (2019) Ortodoncia contemporánea 6ta Ed. Elsevier. España. <https://books.google.com.mx/books?id=AcrSDwAAQBAJ&pg=PA310&dq=aparatos+de+ortodoncia+fijos&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiR9Ifkn4HuAhUEEqwKHXdNCFEQ6AEwAXoECAUQA#g#v=onepage&q=aparatos%20de%20ortodoncia%20fijos&f=false>
- Rodríguez, K., Céspedes, E. (1999) *Estrés oxidativo y envejecimiento*. Revista Cubana de Investigación Biomédicas, 18(2), 67-76. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001999000200001&lng=es&tlng=es.
- Sánchez, V., Méndez, N. (2013) *Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad*. Revista de investigación médica Sur. 20 (3): 161-168. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2013/ms133e.pdf>
- Santa-González, G. A., y Camargo, M. (2017). *Protección celular antioxidante y respuesta adaptativa inducida por estímulos oxidativos crónicos*. Actualidades Biológicas, 38(104), 71-80.
- Signor, S. A., & Nuzhdin, S. V. (2018). *The Evolution of Gene Expression in cis and trans*. Trends in Genetics, 34(7), 532–544. doi:10.1016/j.tig.2018.03.007
- Smile & more, orthodontic dental studio. (s.f) La Guía sobre los Brackets Metálicos. Consultado el 30 de diciembre de 2020. <https://smileandmore.cl/guia-brackets-metalicos/#:~:text=Brackets%20de%20Metales%20Preciosos%3A%20Son,en%20pacientes%20al%C3%A9rgicos%20al%20N%C3%ADquel>.
- Sociedad Española de ortodoncia y ortopedia dentofacial (s.f) *Lo que se debe saber de ortodoncia* <http://www.sedo.es/que-es-la-ortodoncia/file.html>
- Stammberger I., Czich A., Braun K. (2006) *Genotoxicidad, Drug Discovery and Evaluation*. Springer, 829-840 https://doi.org/10.1007/3-540-29804-5_45
- Stanton, L. (2001). *Methods to Profile Gene Expression*. Trends in Cardiovascular Medicine, 11(2), 49–54. doi:10.1016/s1050-1738(01)00085-8
- Zorrilla, A., Eirez, M., Izquierdo, M. (2004) *Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante*. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 23(1), 51-57. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000100008&lng=es&tlng=es.
- Zukowski, P., Maciejczyk, M., Waszkiel, D. (2018) *Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity*. Archives of Oral Biology. 92. 8:17 <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.04.018>

Anexos

1. Consentimiento informado.

Secretaría de la Defensa Nacional.
Unidad de Especialidades Odontológicas.
Subsección de Ortodoncia.

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

A. Fundamentación jurídica y ética.

De acuerdo con Ley General de Salud, Título quinto, Capítulo único. Investigación para la salud. Código Civil Federal Art. 1803 y 1812, Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico, numeral 4.2 y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, Título Segundo. De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, Capítulo I. Disposiciones y con los principios éticos de la Declaración de Helsinki.

“En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar.”

Esta investigación se consideró de riesgo mínimo de acuerdo al Artículo 17, fracción II del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud.

B. Información general.

A usted se le está invitando para que autorice su participación y en su caso la de su familiar en un estudio de investigación, denominado "**Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en pacientes con aparatología ortodóncica fija**", es decir; se estudiarán los cambios que se presentan en las células de la boca por el uso de brackets, bandas, arcos, alambres y aparatos metálicos.

Dicho estudio tiene como finalidad identificar las alteraciones celulares de la mucosa oral debido al uso a la aparatología ortodóncica fija que se emplea para corregir los problemas de maloclusión (dientes en una posición inadecuada, girados, que afectan la estética y la función durante la masticación) mediante el análisis de las muestras de saliva tomadas con un cepillo.

Se realizarán cuatro frotis de la mucosa oral en diferentes tiempos: antes de colocar la aparatología ortodóncica fija, a los seis y nueve meses de haber iniciado el tratamiento y tres meses después de haberlo concluido.

A cada muestra, se le realizarán pruebas moleculares que consisten en el análisis del perfil genético y tinciones químicas para identificar las posibles alteraciones de las células.

Las muestras se analizarán de acuerdo a una clave que se asignará sin conocer la información del paciente para garantizar su confidencialidad.

C. Datos personales.

Grado y nombre del paciente: _____

Matrícula: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Teléfono: _____

Domicilio: _____

Parentesco: _____ Paciente _____ Representante legal _____

D. Riesgos y complicaciones.

Esta investigación es de riesgo mínimo, ya que se trata de un procedimiento sencillo, el cual no causa molestias, ni dolor, no es invasivo, no tiene complicaciones y tiene un tiempo estimado para la toma de la muestra de 30 segundos, el material que se va a utilizar es desechable y se usa nuevo una sola vez en cada paciente.

E. Beneficios.

- a. Los resultados que se obtendrán del estudio serán utilizados para generar nuevas investigaciones en México, así como para realizar propuestas a las autoridades correspondientes para que analicen la compra de nuevos materiales para los tratamientos de ortodoncia con mejor biocompatibilidad para el organismo.
- b. Se le informarán los resultados durante y al final de la investigación, así como de las conclusiones y se les entregará su perfil genético solo con fines informativos.

F. Declaraciones.

Con base en la información que me fue proporcionada, otorgo mi consentimiento para los fines que se me explicaron y declaro lo siguiente:

1. Acepto de forma libre y voluntaria sin existir ninguna presión física o moral sobre mi persona, que he comprendido las explicaciones que me han proporcionado, el propósito y los riesgos del procedimiento, aclarando las dudas que he planteado.
2. He leído y comprendido totalmente este consentimiento y los espacios en blanco que he llenado antes de firmar.

3. Estoy enterado (a) de que en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora otorgo y retirarme de la investigación.
4. La investigadora puede hacer uso del material didáctico que se genere sin fines de lucro.

Este documento se extiende por duplicado, quedando un ejemplar en poder del sujeto de estudio o de su representante legal y el otro con la autora del proyecto. El Comité de Investigación del Hospital Militar de la Mujer y Neonatología, podrá requerirlo en cualquier momento y se conservará durante un tiempo mínimo de 5 años.

Acepto:

Que se me realice el procedimiento denominado: **Toma de Frotis bucal para obtención de una muestra en la parte interna de la mejilla: antes de colocar la aparatología ortodóncica fija, a los seis y nueve meses de la colocación y tres meses después de retirarla.**

Estado de México, a ____ de ____ del 20____

X

Nombre y firma de la
persona que dio el consentimiento

X

Nombre y firma de la
investigadora

Testigos

X

Nombre y firma

X

Nombre y firma

Para preguntas o comentarios puede comunicarse con la Dra. Lucía Ángeles Estrada al teléfono 5532260213, quien es alumna del Doctorado en Ciencias de la Salud en la Universidad Anáhuac.

2. *Asentimiento informado*

Secretaría de la Defensa Nacional.
Unidad de Especialidades Odontológicas.
Subsección de Ortodoncia.

ASENTIMIENTO INFORMADO

Este documento es para niños de 12 y menores de 18 años, a los cuales se les invita a participar en la investigación titulada: **Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en pacientes con aparatología ortodóncica fija**, a cargo de la investigadora principal: Lucía Ángeles Estrada, alumna del Doctorado en Ciencias de la Salud en la Universidad Anáhuac Norte.

El objetivo de este estudio es investigar las alteraciones que ocurren en las células de tu boca por el uso de aparatos de ortodoncia que vas a usar como brackets, bandas, tubos, arcos y aparatos metálicos, que son aditamentos necesarios para realizar tu tratamiento y corregir tu problema de mala posición de tus dientes (“chuecos”) y para ello queremos pedirte que nos apoyes.

Los resultados que se obtengan generarán nueva información para beneficio de la población mexicana ya que el tema está poco investigado en nuestro país en el área de la ortodoncia y se los daremos a conocer a tus padres y a ti.

Lo único que voy a realizar es una toma de una muestra de la parte interna de tus mejillas con un cepillo nuevo y desechable, durante un tiempo de 30 segundos, a esta prueba se le llama frotis bucal y no causa dolor ni riesgos para tu salud.

La prueba se realizará durante cuatro ocasiones a lo largo de tu tratamiento en los siguientes periodos de tiempo: antes de colocarte tus brackets con sus dispositivos, a los seis y nueve meses después de haber iniciado tu tratamiento y tres meses después de retirarte la aparatología ortodóncica.

La información recabada y los resultados serán confidenciales, pues te asignaremos un código con número y letras, con el que te identificaremos y sólo lo conocerán las personas que forman parte del equipo de esta investigación.

Con la información que te he mencionado, te invito cordialmente a participar en el estudio. He discutido esta investigación con tus padres y ellos saben que te estoy preguntando a ti para tu aceptación. Tu participación es voluntaria y tus padres también tienen que aceptarlo. Pero si no deseas tomar parte, no tienes por qué hacerlo, aun cuando tus padres lo hayan aceptado y si aceptas, puedes cambiar de opinión en cualquier momento durante el estudio y retirarte sin ningún problema.

Es probable que haya algunas palabras o enunciados que no entiendas y puedes pedirme que te explique en cualquier momento.

Si aceptas participar, te pido por favor que coloques una (X) en el cuadro de abajo que dice "Sí quiero participar" y escribe tu nombre.

He leído esta información y la entiendo. Me han respondido las preguntas y dudas que tengo. Entiendo que cualquier cambio se discutirá conmigo.

Acepto:

Que se me realice el procedimiento denominado: **Toma de Frotis bucal para la obtención de una muestra tomada en la parte interna de la mejilla: antes de colocar la aparatología ortodóncica fija, a los seis y nueve meses de la colocación y tres meses después de retirarla.**

Estado de México, a _____ de _____ del 20____

X

 Sí quiero participar
en la investigación

X

Nombre y firma de la
investigadora

Testigos

X

Nombre y firma

X

Nombre y firma

Este documento se extiende por duplicado, quedando un ejemplar en poder del sujeto de estudio y el otro con la autora del proyecto.

El Comité de Investigación del Hospital Militar de la Mujer y Neonatología, podrá requerirlo en cualquier momento y se conservará durante un tiempo mínimo de 5 años.

Se anexará al documento de consentimiento informado autorizado por el representante legal del menor.