



## Micronúcleos en células de mucosa bucal como biomarcador de riesgo para cáncer

Salvador Ruíz-Bernés<sup>1</sup>, Aurelio Flores-García<sup>1</sup>, María Luisa Ramos-Ibarra<sup>2</sup>,  
María Raquel Moya-García<sup>3</sup>, Pedro Aguilar-García<sup>1</sup>, Rogelio Sánchez-Gutiérrez<sup>2</sup>,  
Olivia Torres-Bugarín<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Unidad Académica de Medicina, Universidad Autónoma de Nayarit, México. <sup>2</sup>Departamento de Salud Pública, División de Ciencias Veterinarias, Centro de Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, México. <sup>3</sup>Unidad Académica de Enfermería, Universidad Autónoma de Nayarit, México. <sup>4</sup>Programa Internacional, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Guadalajara, México.

Los micronúcleos son fragmentos o cromosomas completos que quedan fuera del núcleo durante la mitosis; mediante su estudio se pueden evaluar los efectos de genotóxicos ambientales y ocupacionales. Esta prueba es ampliamente utilizada y es una alternativa eficaz, sencilla y económica para detectar la pérdida de material genético.

El cáncer es una de las enfermedades crónico-degenerativas prevalentes a nivel mundial. La incidencia en el año 2008 fue de 12.7 millones, con una mortalidad de 7.6 millones; de estas cifras, 56% de los casos nuevos de cáncer y 63% de las muertes por esta enfermedad ocurrieron en las regiones menos desarrolladas del mundo (Ferlay, et al., 2010) y el 30% pudieron prevenirse (World Health Organization - WHO, 2013). Acordé a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es la primera causa de mortalidad a nivel mundial, y se reporta que el cáncer de mama ocupa el primer lugar en mujeres, mientras que en hombres es el cáncer de pulmón. Se espera que las muertes por neoplasias malignas alcancen 12 millones de casos para 2030 (World Health Organization - WHO, 2010a; World Health Organization - WHO, 2013).

En México, a partir del año 2006, el cáncer de mama es el más frecuente y ocupa el primer lugar en mortalidad por cáncer en mujeres de todas las edades y niveles socioeconómicos, mientras que en varones, según datos del 2004 al 2007 fueron más frecuentes las leucemias y actualmente el cáncer de próstata ocupa el primer lugar como causa de muerte por neoplasias (Instituto Nacional de Estadística y Geografía - INEGI, 2011). Para el 2010, la mortalidad proporcional por cáncer alcanzó el 13%, 87.3% de casos para hombres y 74.9% para mujeres por cada 100,000 habitantes (World Health Organization - WHO, 2010a).

### Cáncer y factores de riesgo

Diversos factores de riesgo se relacionan con cáncer; entre los que se incluyen, factores genéticos, tabaquismo, alcoholismo, sobrepeso y obesidad, sedentarismo, exposición a radiación ionizante y ultravioleta; y a ciertos productos químicos como el asbesto, el uso doméstico de leña, infecciones causadas por algunos virus, como el de la hepatitis B y C y el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Sin embargo, existen diferencias epidemiológicas entre países, las cuales pueden deberse a factores ambientales,



estilos de vida, hábitos, genética y alimentación (Organización Mundial de la Salud - OMS, 2010). Cabe destacar que el Virus del Papiloma Humano (VPH) es el principal factor etiológico de la mayoría de los casos de cáncer de cérvix (Bosch & De San José, 2003).

El cáncer es una enfermedad que va en aumento a nivel mundial por lo que constituye un problema de salud pública; el costo económico para las instituciones de salud es elevado, asimismo, deteriora en alto grado la calidad de vida de los pacientes que lo padecen así como de sus familiares. Por estas razones la Organización Mundial para la Salud (OMS) propuso seis módulos de acción (World Health Organization - WHO, 2010b): planeación, prevención, detección temprana, diagnóstico y tratamiento, cuidado paliativo, participación política y social. De estas acciones, la prevención y la detección temprana juegan un papel determinante para disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer; la prevención con el fin de reducir los riesgos de padecer la enfermedad al controlar el mayor número posible de factores de riesgo y la detección temprana para realizar una intervención oportuna ya que algunos tipos de cáncer son muchas veces curable si se inicia el tratamiento en etapas tempranas (World Health Organization - WHO, 2010b).

Por las razones mencionadas, el implementar técnicas que coadyuven a disminuir la incidencia y mortalidad de algunos tipos de cáncer resulta de gran importancia. Una herramienta útil para este propósito es la prueba de micronúcleos (MN), esta ofrece una gran oportunidad clara y precisa en el monitoreo del daño genético en las poblaciones en alto riesgo de desarrollar cáncer, además de que no es necesario el cultivo celular, es rápida, relativamente sencilla y económica, mínimamente

invasiva, indolora y bien aceptada por los pacientes (Bonassi, et al., 2011).

### **La prueba de micronúcleos**

Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que quedan rezagados en anafase, por lo tanto no son incluidos en el núcleo de las células hijas durante la división nuclear. Los MN pueden ser generados a través de diferentes procesos, es decir, rompimiento y/o pérdida del cromosoma y este daño puede ocurrir debido a excesiva exposición a agentes que dañan el cromosoma, defectos en la mitosis y/o defectos en la reparación del DNA (Schmid, 1975). La prueba puede ser aplicada en cultivo o in vivo en cualquier tejido que se divida (Bonassi, et al., 2011) por ejemplo en eritrocitos (Zúñiga-González, et al., 2001), linfocitos (Bonassi, et al., 2007) y células epiteliales (Holland, et al., 2008), con el objetivo de detectar daño al genoma. La utilización de la prueba de MN en años recientes se ha incrementado exponencialmente, esto se debe a diversos factores como la relativa sencillez de la prueba, el que la obtención de la muestra es mínimamente invasiva y a su bajo costo, todo esto sumado a la amplia evidencia que asocia la frecuencia de MN con exposición medioambiental y ocupacional a agentes genotóxicos, estilos de vida, factores genéticos, cáncer y con otras enfermedades crónico-degenerativas (Bonassi, et al., 2007).

Por otro lado diversos estudios han mostrado un aumento significativo en la frecuencia de MN en linfocitos de sangre periférica y en células exfoliadas de mucosa bucal de pacientes con cáncer (Bonassi, et al., 2011; Torres-Bugarín, 2000). Nersesyan (et al., 2002) MN en células exfoliadas de mucosa bucal de pacientes con cáncer de mama, pulmón y cérvicouterino no tratados comparado con controles, asimismo, Yildirim (et al, 2006). tanto en mucosa como en sangre periférica



de pacientes con cáncer de estómago, pulmón y colon no tratados (Yildirim, Yesilada, & Yologlu, 2006).

Así la utilización de este biomarcador se vislumbra como una herramienta útil en el monitoreo de daño genotóxico como consecuencia de exposición ambiental, laboral o medicamentosa, así como en la detección temprana de efectos secundarios de enfermedades crónico-degenerativas, como las cardiovasculares o neurodegenerativas y por supuesto en la prevención del desarrollo de cáncer (Torres-Bugarín, et al., 2013).

Si bien es verdad que la prueba de MN se puede aplicar en cualquier tejido que se divida (Heddle, et al., 1991), entonces todos los epitelios son potencialmente utilizables, sin embargo, las características del epitelio de la mucosa oral favorecen su utilización en pruebas para evaluar genotóxicos o citotóxicos, esto debido a que es de fácil acceso pero además la mucosa oral es el punto de contacto con muchos agentes potencialmente peligrosos, es un epitelio con alta proliferación, lo que permite que la población celular se mantenga constante; sin embargo, esta particularidad lo vuelve más vulnerable a lesiones producidas en el ADN; por lo que cobra relevancia ya que se calcula que el 90% de todos los tipos de cáncer tienen origen epitelial. De tal manera que la mucosa oral es usada para monitorear eventos genotóxicos tempranos (Slack, 2000).

El conteo de los MN, es llevado a cabo fácilmente pero especialmente, los MN observados en células exfoliadas de tejido epitelial se forman en las células de la capa basal que es donde se lleva a cabo la división celular, esta migran a la superficie en el transcurso de 5 a 14 días, de tal manera que el monitoreo de poblaciones en este tejido puede reflejar el daño

ocurrido durante este tiempo, este daño puede ser espontáneo o inducido por factores endógenos o exógenos, la muestra se toma mediante un raspado de mucosa, previo a un suave enjuague bucal; se hace el extendido en portaobjetos perfectamente limpios (uno por carillo), de dejan secar a temperatura ambiente, se fijan en etanol al 80%, se tiñen con colorantes básicos o específicos para ADN, (Holland, et al., 2008; Nersesyan, et al., 2002; Nersesyan, et al., 2006) y se analizan entre 500 a 4000 células con el objetivo 100x (Ceppi, et al, 2010), en las que se registran los MN encontrados acorde a los criterios establecidos por (Tolbert, et al., 1992) y más recientemente descritos por Ceppi, (et al., 2010), así una célula micronucleada (CMN) la describen como la presencia de un núcleo principal y una o más pequeñas estructuras nucleares denominadas MN. Un MN tiene la forma redonda o almendrada y mide entre 1/3 y 1/16 del núcleo principal, presenta la misma intensidad, textura y plano focal que el núcleo y es un fragmento o un cromosoma completo que al momento de la mitosis no se integra a uno de los núcleos de las células hijas (Thomas, et al., 2009; Tolbert, et al., 1991)

### Conclusión

La determinación, por medio de la prueba de MN, de la frecuencia de MN en células exfoliadas de mucosa bucal puede ser de gran utilidad en la prevención y detección oportuna de riesgo de algunos tipos de cáncer. Este biomarcador puede tener gran impacto como un pretamizaje en poblaciones con factores de riesgo para desarrollar cáncer. Esto contribuiría a los programas sociales dirigidos a disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer, lo cual impactaría en una reducción del gasto económico en instituciones de salud y en mejorar la calidad y expectativas de vida de las personas con riesgo de desarrollar esta enfermedad.



## Bibliografía

- Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., & Torres-Bugarín, O. (2011). The Human MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research* , 88-97.
- Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., & Lando, C. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* , 28 (3), 625–631.
- Bosch, F. X., & De San José, S. (2003). Human Papillomavirus and Cervical Cancer—Burden and Assessment of Causality. *Journal of the National Cancer Institute* , 3-13.
- Ceppi, M., Biasotti, B., Fenech, M., & Bonassi, S. (2010). Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: Statistical and epidemiological issues. *Mutation Research* , 705 (1), 11-19.
- Ferlay, J., Shin, H.-R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer* , 127 (12), 2893-2917.
- Heddle, J. A., Cimino, M. C., Hayashi, M., Romagna, F., Shelby, M. D., Tucker, J. D., y otros. (1991). Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, present, and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis* , 18 (4), 277-291.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Stefano, B., Errol, Z., Knasmueller, S., y otros. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research* (1-2), 93-108.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía - INEGI. (3 de Febrero de 2011). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Datos nacionales. Recuperado el 10 de Junio de 2013, de Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Datos nacionales.: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2011/cancer11.asp?s=inegi&c=2780&ep=50>
- Nersesyan, A. K., Vardazaryan, N. S., Gevorgyan, A. C., & Arutyunyan, R. M. (2002). Micronucleus Level in Exfoliated Buccal Mucosa Cells of Cancer Patients. *Archive of Oncology* , 10 (1), 35-36.
- Nersesyan, A., Kundi, M., Atefie, K., Schulte-Hermann, R., & Knasmüller, S. (2006). Effect of Staining Procedures on the Results of Micronucleus Assays with Exfoliated Oral Mucosa Cells. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* , 15 (10), 1835-1840.
- Organización Mundial de la Salud - OMS. (15 de Enero de 2010). Cáncer. Nota descriptiva N°297. Recuperado el 27 de Enero de 2010, de Cáncer. Nota descriptiva N°297.: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research* , 31 (1), 9-15.
- Slack, J. M. (2000). Stem Cells in Epithelial Tissues. *Science* , 287 (5457), 1431-1433.
- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., y otros. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols* , 4 (6), 825-837.
- Tolbert, P. E., Shy, C. M., & Allen, J. W. (1991). Micronuclei and Other Nuclear Anomalies in Buccal Smears: A Field Test in Snuff Users. *American Journal of Epidemiology* , 134 (8), 840-850.
- Tolbert, P. E., Shy, C. M., & Allen, J. W. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research* , 271 (1), 69-77.



Torres-Bugarín, O. (2000). Evaluación de la genotoxicidad de las drogas antineoplásicas mediante el conteo de micronúcleos y otras anomalías nucleares en mucosa bucal y micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica. Tesis doctoral. Guadalajara, Jalisco, México: Universidad de Guadalajara.

Torres-Bugarín, O., Zavala-Cerna, M. G., Macríz Romero, N., Flores-García, A., & Ramos-Ibarra, M. L. (2013). Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *El Residente*, 8 (1), 4-14.

World Health Organization - WHO. (29 de Enero de 2010b). Cancer Control. Knowledge into action. Recuperado el 2010 de Enero de 29, de Cancer Control. Knowledge into action.: <http://www.who.int/cancer/modules/Modules%20Flyer.pdf>

World Health Organization - WHO. (12 de Junio de 2013). Cancer. World Cancer Day 2013. Recuperado el 12 de Junio de 2013, de Cancer. World Cancer Day 2013.: <http://www.who.int/cancer/en/index.html>

World Health Organization - WHO. (12 de Junio de 2010a). Media centre. Cancer. Recuperado el 12 de Junio de 2010, de Media centre. Cancer.: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>

Yildirim, I. H., Yesilada, E., & Yologlu, S. (2006). Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and exfoliated buccal cells of untreated cancer patients. *Genetika*, 42 (5), 705–710.

Zúñiga-González, G., Torres-Bugarín, O., Zamora-Perez, A., Gómez-Meda, B. C., Ramos Ibarra, M. L.,

Martínez-González, S., y otros. (2001). Differences in the number of micronucleated erythrocytes among young and adult animals including humans. Spontaneous micronuclei in 43 species. *Mutation Research*, 161-167.

### Datos de los autores

M.C. Salvador Ruíz-Bernés  
Unidad Académica de Medicina  
Universidad Autónoma de Nayarit  
[salvador@uan.edu.mx](mailto:salvador@uan.edu.mx)

Dr. en C. Aurelio Flores-García  
Unidad Académica de Medicina  
Universidad Autónoma de Nayarit  
[affloresg@gmail.com](mailto:affloresg@gmail.com)

Dra. en C. María Luisa Ramos-Ibarra  
Departamento de Salud Pública  
División de Ciencias Veterinarias  
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México.

M.C. María Raquel Moya-García  
Unidad Académica de Enfermería  
Universidad Autónoma de Nayarit



---

M.C. Pedro Aguár-García  
Unidad Académica de Medicina  
Universidad Autónoma de Nayarit

M.C. Rogelio Sánchez-Gutiérrez  
Unidad Académica de Enfermería  
Universidad Autónoma de Nayarit

Dra. en C. Olivia Torres-Bugarín  
Programa Internacional  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma de Guadalajara  
Zapopan, Jalisco, México.  
olviatorres@hotmail.com