

## Toxicidad del BIS-GMA sobre leucocitos polimorfonucleares en pacientes con neoplasia maligna.

Pinchao-Cáliz Carmen Adriana,\* Tinoco-Cabriales Violeta Cecilia,\*\*  
Zamarripa-Díaz Enrique,\*\*\* Luna-Domínguez Jorge.\*\*\*\*

### Resumen

En este estudio, in-vitro se evaluó la toxicidad del Bis-GMA que contiene el adhesivo dental Transbond XT™ 3M Uniteck al ser colocado en contacto directo sobre los Leucocitos polimorfonucleares, segunda línea de defensa después de la piel y la mucosa. Materiales y métodos: Se utilizaron 10 ml de sangre de sangre venosa periférica de 20 pacientes, 10 de ellos presentaban patología de cáncer, de los cuales el 50 % era de género masculino y el otro 50% de género femenino, su promedio de edad fue de 51.4 años de edad y los pacientes restantes presentaban un estado sistémico sano, el 50% fue de género masculino y el otro 50% de género femenino y el promedio de edad fue de 26.1 años de edad, a dichos pacientes se les aislaron sus leucocitos polimorfonucleares mediante una solución de Dextrán al 3% a 37°C para luego dividirlos en 4 grupos. Los grupos 1 y 3 fueron controles, de los cuales el grupo 1 perteneció a los pacientes sistémicamente sanos y el 3 a los que presentaban este tipo de neoplasias, y el grupo 2 y 4 fue con distribución igual que la anterior, se les agregó 25 ul de adhesivo dental que contiene Bis-GMA y los 4 grupos se incubaron a 37°C por una hora. Se evaluó la viabilidad celular de los 4 grupos de estudio para determinar cuál fue el de mayor toxicidad. Para determinar el efecto tóxico de este agente se aplicó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon, y se delimitó mediante la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney tanto para los pacientes con ausencia como presencia de cáncer. Resultados: Se encontró que el Bis-GMA que está presente en el adhesivo dental, provocó una disminución estadísticamente significativa en la viabilidad celular independientemente del estado sistémico del paciente.

Palabras clave: Leucocitos polimorfonucleares, Bis-GMA, Bisfenol A, toxicidad, viabilidad celular.

### Abstract

In this study, was evaluated in vitro cytotoxicity of Bis-GMA containing Dental Adhesive 3M Transbond XT™ Uniteck over the polymorphonuclear leukocytes, second line of defense after the skin and mucosa. Materials and methods: 10 ml of periferic blood venous from 20 patients were used, 10 of them had been cancer pathology, of which 50% was male and 50% female gender, where the average age was 51.4 years age and the remaining patients had a healthy systemic condition, 50% were male and 50% female, and the average age was 26.1 years old; their polymorphonuclear leukocytes were separated by Dextrán solution 3% 37 ° C and then divide into 4 groups. Groups 1 and 3 were controls, of which group 1 belonged to the systemically healthy patients while the 3 group had been developed some type of cancer, be the other hand groups 2 and 4 with the some previous distribution, were added whit 25 ul dental adhesive containing Bis-GMA and then the 4 groups were incubated at 37 ° C for one hour. Cell viability of the 4 study groups were evaluated to determine the toxicity. To evaluated the toxicity effect of this agent ranges test were applied Wilcoxon test, which was delimited by the nonparametric Mann-Whitney for patients with absence and presence of cancer. Results: We found that Bis-GMA present in the dental adhesive, caused a statistically significant decreased in cell viability independent regardless of the systemic condition of the patient.

Keywords: polymorphonuclear leukocytes, Bis-GMA, bisphenol A, toxicity, cell viability.

\* Estudiante de la Maestría en Ortodoncia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

\*\*Maestra de pregrado y posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

\*\*\* Coordinador de la Maestría en Ortodoncia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

\*\*\*\*Asesor estadístico de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

Recibido: Marzo 2016 Aceptado: Mayo 2016

### Introducción

Cuando el Odontólogo considera realizar un tratamiento, los procedimientos y las técnicas que se aplican a cada paciente van dirigidas a crear beneficio y evitar un daño al organismo, en particular en la cavidad bucal, órgano principal que constituye en su mayor parte el aparato estomatognático. Por lo anterior se consideró necesario, que no sólo se conozca el sustrato biológico sobre el cual se debe actuar, sino también el comportamiento que poseen los diferentes materiales que se utilizan en el proceso terapéutico, por lo tanto se hará énfasis en los adhesivos dentales que están compuestos principalmente por Bis-GMA y son utilizados en la rama de la Odontología, principalmente en la práctica ortodóncica, constituyéndose hoy en día uno de los materiales más solicitados en dicha praxis.

En 1962 Rafael Bowen patenta la resina BIS-GMA, que constituye el origen de prácticamente todos los adhesivos poliméricos, desarrollando además en 1964 un nuevo tipo de resina compuesta, cuya innovación se basó en la matriz del monómero Bisfenol A-Glicidil-Metacrilato (BIS-GMA), dichos monómeros son considerados la columna vertebral de la resina compuesta, siendo el BIS-GMA el más utilizado de las resinas actuales. Posteriormente a Bowen et al, eliminan el componente cerámico del citado material con la finalidad de reducir su viscosidad, lo que da lugar a la aparición del primer adhesivo dental.<sup>1</sup>

El Bis-GMA es un precursor del BPA, en la producción de la matriz de policarbonato aromático de muchos

brackets ortodóncicos de plástico o con soportes cerámicos y de bases de policarbonato y en resinas adhesivas y compuestas, numerosos estudios indican que diversos componentes de resina, como Bis-GMA, UDMA y TEGDMA, puede ser liberados de éste compuesto en el medio bucal e inducido a una variedad de efectos biológicos adversos. La liberación de monómeros se mantiene en un nivel alto durante mucho tiempo, de 7 a 28 días después de la polimerización y así sea utilizando los 40 segundos que normalmente se manejan para el proceso de fotocurado, lo cual parece ser insuficiente con el fin de prevenir una alta liberación de monómeros.<sup>1</sup>

El grado de curado de los adhesivos modula las propiedades físicas y mecánicas del material, particularmente la solubilidad y la degradación, dicho efecto tiene un papel crucial en la alteración del desempeño biológico de los materiales debido a que una red insuficientemente densa que surge de una disminuida conversión de enlaces dobles de carbono resultante en la lixiviación del monómero y la liberación de dichas sustancias como plastificantes, iniciadores de polimerización, e inhibidores, conlleva a infligir efectos biológicos nocivos en cultivos celulares.<sup>2</sup>

Según varios estudios realizados por Olea Serrano et al y sus respectivos colaboradores, la polimerización incompleta del BPA conduce a la lixiviación de la sustancia química y la subsiguiente exposición en las personas, como lo demuestra la detección del BPA en la orina humana, suero, el plasma materno y fetal, líquido amniótico, placenta, y el tejido adiposo. Por otro lado hay suficiente evidencia que demuestra que pueden afectar adversamente a los humanos, ya que es un alterador endocrino que ha mostrado, ser peligroso en estudios de laboratorio con animales, Olea Serrano et al y Farzaneh Ahrari et al. Según la Dirección General XXIV de la comisión Europea la Disrupción endocrina es el descriptor de un cambio fisiológico que puede conducir a un afecto adverso para la salud.<sup>2,3,4</sup>

Estudios indican que hay asociaciones entre la exposición a BPA y los resultados adversos tanto perinatales como en la niñez y en la edad adulta, incluyendo efectos sobre la reproducción, el desarrollo y enfermedad metabólica, además de otros efectos, como serias consecuencias biológicas, tales como inducir pubertad prematura en niñas jóvenes.<sup>2</sup> Este agente como subproducto resultante de la degradación de las resinas adhesivas también puede actuar como una hormona esteroide y causar cáncer ovárico, o la maduración disruptiva de los órganos reproductores masculinos, Farzaneh et al., como también activa a los receptores relacionados con los estrógenos e inhibe los receptores de los andrógenos y de las hormonas tiroideas.<sup>4,5</sup>

Varios artículos revelan los efectos nocivos del BPA, como efectos proliferativos de células cancerosas de mama en humanos mientras que en ratones existen efectos adversos sobre la fertilidad, interrupción del desarrollo de la próstata fetal y de la uretra además de la función hepática Kotyka et al y Willhite.<sup>6,7</sup>

Las propiedades estrogénicas del BPA son bien conocidas desde la década de 1930 y puede contribuir al cáncer de mama que cuando se combina con progestinas puede aumentar la incidencia de esta patología, ya que la exposición a este agente conlleva a la replicación del ADN, el ciclo celular y suprime la apoptosis a través del bloqueo del P53 que es el guardián del genoma, debido a que células cancerosas apoyan al BPA tanto en la promoción de rasgos característicos cancerosos, como en proliferación continua y evasión de la apoptosis en células de alto riesgo que aún no se han convertido en malignas. Este tema es muy controvertido para definir si éste agente posee efecto genotóxico y actividades cancerígenas, debido a que su estructura química se asemeja al dietilestilbestrol (DES), que es bien conocido como carcinógeno en humanos. Resultados de algunos estudios confirman la capacidad del Bisfenol A, a formar aductos de ADN tanto de forma in vitro, en un sistema a celular, como in vivo en el hígado de roedores.<sup>3</sup>

Estudios realizados sobre linfocitos humanos han demostramos que el Bis-GMA es genotóxico para este tipo de células y según Reichl et al, sugieren que pueden interactuar directamente con el ADN, ya que también se demostró que en concentración de EC50 de 0,09 mM ha evocado la tasa más alta en formación de roturas de ADN de doble cadena, en los fibroblastos gingivales humanos. Aunque también se encontró un estudio realizado en ratones hembras y machos que habla que no produce efectos adversos reproductivos y del desarrollo en la dosis más alta del monómero de resina dental Bisfenol A Glicidil metacrilato (Bis-GMA).<sup>8</sup>

Por lo anterior aparece la inquietud de estudiar más a fondo los efectos que pudiera tener el Bis-GMA principal componente del adhesivo dental, sobre el ser humano, con un modelo experimental in-vitro para evaluar sus resultados sobre los Leucocitos polimorfonucleares, células del sistema inmunológico que viajan a través de la sangre para llegar a sitios donde son requeridos y llevan a cabo su función fuera de la circulación para combatir infecciones o cuerpos extraños; aunque en el caso de las enfermedades autoinmunes pueden atacar los tejidos normales del propio cuerpo y son las células profesionales que tienen un citoesqueleto muy desarrollado que les permite cumplir las funciones de migración, patrullaje, fagocitosis y degranulación.<sup>9</sup>

## Materiales y Métodos

Se seleccionaron 20 pacientes adultos, de los cuales 10 son sistémicamente sanos y 10 pacientes con patología de cáncer en cualquiera de sus etapas de tratamiento y que aceptaron participar en el estudio, se tomaron una muestra de 10 ml de sangre venosa periférica a cada uno de los pacientes, siguiendo los parámetros establecidos por la OMS en el manejo y control de los fluidos orgánicos. Mediante una pipeta pasteur estéril, con su respectivo bulbo y en ambiente aséptico, se derrama la sangre de mezcla homogénea con heparina por las paredes del tubo de ensayo de 16 x 150 que contenía Dextrán al 3% y se llevó a incubar a 37°C por dos horas, para obtener el plasma rico en Leucocitos polimorfonucleares.

Dicho plasma se centrifugó a 1500 Rpm durante 7 minutos y se decantó la porción líquida con un movimiento rápido y firme quedando en el fondo un botón celular que corresponde a los Leucocitos polimorfonucleares, se eliminó el exceso de Dextrán mediante el lavado a través de solución NaCl al 0.85% (5 ml) y un segundo centrifugado bajo las mismas condiciones de tiempo y Rpm, dicha acción se repitió una última vez y luego se procedió hacer el ajuste de la población celular a  $4 \times 10^6$  ml. Posteriormente se evaluó la viabilidad celular incubándose las células a 37°C por periodo de una hora tanto para el grupo control como el experimental o problema, pero a este último se le adicionó 25  $\mu$ l de adhesivo dental compuesto principalmente por Bis-GMA.

Una vez pasada la hora se retiraron los tubos de ensayo cuya medida fue de 10x75 y se colocaron sobre una gradilla, los tubos que contenían el control y el problema con 50  $\mu$ l de células y material de estudio y se les agregaron 50  $\mu$ l del colorante supravital, azul de Tripiano lo cual permitirá diferenciar las células vivas de las muertas (Figura 1 y 2), ya que este penetrará a través de la membrana de las células que hayan sufrido algún daño, permitiendo así observar y distinguir en el microscopio las células que sean viables de las que no lo son.



Figura 1. LPMN vivos.

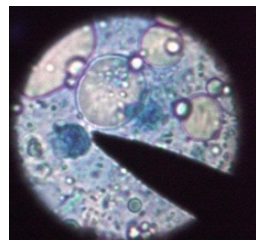


Figura 2. LPMN muertos.

## Resultados

El estudio estuvo conformado por 20 pacientes, 10 de ellos presentaban patología de cáncer, de los cuales el 50 % era de género masculino y el otro 50% de género femenino. Su promedio de edad fue de 51.4 años  $\pm$  11.2 (D.E.) Los pacientes restantes presentaban un estado sistémico sano, el 50% fue de género masculino y el otro 50% de género femenino, el promedio de edad fue de 26.1 años  $\pm$  5.9 (D.E.). El análisis se inició obteniendo los estadísticos descriptivos (media, I.C. para la media al 95%, mediana, desviación estándar, mínimo y máximo) de la variable cuantificación celular con respecto al estado sistémico de los pacientes (ausencia o presencia de cáncer). (Tabla 1).

Cuantificación celular de pacientes sin la aplicación del Bis-GMA (Grupo Control) En base a los resultados obtenidos en la tabla N 1 al utilizar la prueba de U de Mann-Whitney se concluyó que los valores obtenidos en la viabilidad celular tanto para los pacientes con ausencia de cáncer (media 94.0, mediana 94.5, D.E. 2.7) como los pacientes con presencia de cáncer (media 86.3, mediana 89.5, D.E. 12.4) no reportaron diferencias significativas (valor  $p=0,62$ ).

Cuantificación celular de pacientes con la aplicación del Bis-GMA (Grupo experimental ó problema). De acuerdo a los estadísticos descriptivos reportados en la tabla N 1 con respecto a la viabilidad celular posterior a la aplicación del Bis-GMA, al utilizar la prueba de U de Mann-Whitney se encontró suficiente evidencia estadística para concluir que los valores obtenidos en la viabilidad celular de los pacientes con presencia de cáncer (media 0.1, mediana 0,0, D.E. 0.3) mostró una disminución significativa con respecto a los pacientes con ausencia de la patología antes mencionada (media 5.2, mediana 5.5, D.E. 2.7) (valor  $p < 0.0001$ ).

Es de sumo interés mostrar los valores que se obtuvieron con respecto a la viabilidad celular de cada tipo de cáncer (Tabla 2), así como, los pacientes del grupo control con su respectiva distribución porcentual. (Tabla 3).

Tabla1. Estadísticos descriptivos de control y experimental (problema).

Grupo		Estadístico						
		Media	95% de intervalo de confianza para la media		Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior				
Control vivas	Ausencia de cáncer	94,0	92,1	95,9	94,5	2,7	90,0	98,0
	Presencia de cáncer	86,3	77,4	95,2	89,5	12,4	55,0	98,0
Experimental vivas	Ausencia de cáncer	5,2	3,3	7,1	5,5	2,7	0,0	9,0
	Presencia de cáncer	0,1	-0,1	0,3	0,0	0,3	0,0	1,0

Tabla 2. Distribución porcentual grupo con cáncer.

No	Tipos de Cáncer	% Control		% Experimental (Pb)		Cuantificación celular
		Vivas	Muertas	Vivas	Muertas	
1	Histiocitosis de células de Langerhans	95	5	0	100	25x10 <sup>6</sup>
2	Próstata	85	15	0	100	27x10 <sup>6</sup>
3	No Hodkin	85	15	1	99	26x10 <sup>6</sup>
4	Mama	98	2	0	100	6.9x10 <sup>6</sup>
5	Tiroides	96	4	0	100	5.5x10 <sup>6</sup>
6	Mama (metástasis)	79	21	0	100	10x10 <sup>6</sup>
7	Próstata	89	11	0	100	17x10 <sup>6</sup>
8	Recto	90	10	0	100	10.3x10 <sup>6</sup>
9	Mama (metástasis)	55	45	0	100	4.4x10 <sup>6</sup>
10	Mama	91	9	0	100	8.9x10 <sup>6</sup>

En base a la tabla 2, podemos observar que de acuerdo a los diferentes tipos de cáncer los de mayor relevancia fueron los de cáncer de mama y cáncer de mama metastásico, cuya viabilidad celular fue menor para los pacientes que presentaron invasión a otros órganos (metástasis) por lo tanto, se llevó a cabo una comparación entre viabilidad celular de los cánceres de mama y mama metastásico tanto en la etapa control como en la experimental (aplicación del Bis-GMA). Dejando en claro que el tamaño de muestra en esta comparación no alcanza la potencia adecuada en el test estadístico, sin embargo su resultado servirá como fundamento de futuras hipótesis.

En la comparativa de viabilidad celular sin presencia de Bis-GMA entre pacientes con cáncer mama y mama metastásico: En base a los resultados obtenidos de viabilidad celular los pacientes con presencia de cáncer de mama, como los de cáncer mama metástasis, no reportaron diferencias significativas (valor  $p=0.121$ ) (Tabla 4).

Las etapas en la que se encuentran los pacientes es de relevancia médica, por lo que se comparó la viabilidad celular de los pacientes que se encuentran en estado activo con los sobrevivientes a este tipo de neoplasias, como también se hizo una comparación específica entre pacientes sobrevivientes a dicha enfermedad con los que presentan cáncer de mama y los que han superado esta patología con los restantes activos. Nuevamente se hace mención de la falta de sensibilidad de los contrastes debido al tamaño de muestra.

Comparativa de viabilidad celular sin presencia de Bis-GMA entre pacientes sobrevivientes de cáncer en relación a los de tratamiento activo. Para la descripción y comparación estadística se clasificó como grupo 1 a los pacientes sobrevivientes y como grupo 2 a los pacientes que se encuentran en estado activo.

En el grupo 1 se encontró una mayor viabilidad celular (media 95.5, mediana 95.5, D.E. 0.7), con respecto al grupo 2 cuyos pacientes se encuentran en estado activo

Tabla 3. Distribución porcentual grupo pacientes sanos.

No	% Control		%Pb	
	Vivas	Muertas	Vivas	Muertas
1	90	10	4	96
2	96	4	6	94
3	98	2	2	98
4	96	4	0	100
5	92	8	5	95
6	95	5	8	92
7	90	10	9	91
8	96	4	7	93
9	94	6	6	94
10	93	7	5	95

(media 84.0, mediana 87.0, D.E. 13.0). Al utilizar la prueba de U de Mann-Whitney esta diferencia no fue estadísticamente significativa (valor  $p=0.116$ ).

#### Efecto de toxicidad del BIS-GMA

Para determinar el efecto tóxico de este agente se aplicó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon, en el que se encontró como resultado que el Bis-GMA, provocó una disminución estadísticamente significativa en la viabilidad celular independientemente del estado sistémico del paciente.

Los pacientes que presentan cáncer mostraron una viabilidad celular con una media de  $86.3 \pm 12.4$  (D.E.) y una mediana igual a 89.5, posterior a la aplicación del Bis-GMA e incubación de los leucocitos polimorfonucleares a una temperatura de 37°C por una hora, los valores obtenidos disminuyeron a una media de  $0.1 \pm 0.3$  (D.E.) y una mediana de 0.0. Este cambio fue estadísticamente significativo (Valor  $p=0.005$ ).

En el caso de los pacientes sistémicamente sanos la viabilidad celular presentó una media de  $94.0 \pm 2.7$  (D.E.) y una mediana igual a 94.5, y posteriormente a la aplicación del Bis-GMA e incubación de los leucocitos polimorfonucleares a una temperatura de 37°C por una hora, los valores obtenidos disminuyeron a una media de  $5.2 \pm 2.7$  (D.E.) y una mediana de 5.5. Este cambio estadísticamente fue significativo (valor  $p < 0.0001$ ).

#### Discusión

Los resultados obtenidos demostraron una importante viabilidad celular en el grupo control tanto en pacientes que presentaban esta patología (media 86.3, mediana 89.5, D.E. 12.4), como los que eran clínicamente sanos (media 94.0, mediana 94.5, D.E. 2.7), dando suficiente evidencia estadística para concluir que los valores obtenidos en los pacientes con presencia de cáncer mostró una disminución significativa con respecto a los pacientes sistémicamente sanos, aunque no alcanzarán a reportar diferencias significativas, (valor  $p=0.62$ ), dejando en claro que el tamaño de muestra en esta comparación no alcanza la potencia adecuada en el test estadístico. (Tabla 1)

Cuando se realizó la aplicación del Bis-GMA en el grupo experimental o problema, para ver la viabilidad celular y realizar la cuantificación respectiva de Leucocitos polimorfonucleares, tanto para pacientes en estado sistémico sano como los pacientes comprometidos (neoplasias) se encontró suficiente evidencia estadística para concluir que los valores obtenidos en la viabilidad celular de los pacientes con presencia de Cáncer (media 0.1, mediana 0.0, D.E. 0.3) mostró una disminución significativa con respecto a los pacientes con ausencia de la patología antes mencionada (media 5.2, mediana 5.5, D.E. 2.7) (valor  $p < 0.0001$ ). (Tabla 1).

Cual tenemos que Goodson et al.<sup>10</sup> a descrito con respecto al BPA que los efectos ocurren rápidamente comprometiendo la ayuda y las señales moleculares para remover los blanco celulares a través de la muerte celular por apoptosis, la cual se da por especies reactivas de oxígeno y probablemente a través de transformaciones epigenéticas (cambio en el fenotipo del recién nacido) tal como lo afirmó Drozd et al.<sup>11</sup>, puesto que ya se demostró que el Bis-GMA es tóxico en todas las etapas clínicas del Cáncer así como en los pacientes control, como siguiente paso se realizó una comparación de viabilidad celular en pacientes de Cáncer de mama versus los de Cáncer de mama metastásico encontrando diferencia estadísticamente significativa para los pacientes de mama metastásico tuvieron mucha más muerte celular. Por lo que Rossouw et al.<sup>12</sup> señalan que las propiedades estrogénicas del BPA cuando se combinan con las progestinas son capaces de incrementar la incidencia del Cáncer de seno, mientras que Dairkee et al.<sup>13</sup> encontró que el Bis-GMA induce un perfil de agresividad en tumores de células de alto riesgo en pacientes con Cáncer de seno; también ha sido demostrado por Vandenberg et al.<sup>14</sup> que en ratones en etapa fetal, el BPA altera el desarrollo de las glándulas mamarias, mientras que Tarp et al.<sup>15</sup> fue capaz de encontrar lo mismo pero en *Macacus Rhesus*.

Además el BPA es un disruptor endócrino por lo que se considera cancerígeno en humanos, puesto que su estructura química es similar a la del dietilestilbestrol, ya que se ha demostrado que hijas de madres expuestas a este producto antes de nacer mostraron mayor riesgo de desarrollar células anormales precursoras de cáncer en cuello uterino y vagina según Izzotti et al.<sup>16</sup> Lee et al.<sup>17</sup> encontraron que el oncogene SET es un inhibidor de la fosfatasa 2A, cuya regulación se ve significativamente disminuida en forma dosis dependiente por el BPA, al disminuir el fenómeno inflamatorio podría de alguna manera permitir la diseminación e invasión del Cáncer. Por otro lado buscamos comparar los pacientes que se encontraban en estado activo del Cáncer contra los sobrevivientes del mismo pero no se encontró diferencias estadísticamente significativas.

En general los adhesivos, así como las resinas dentales compuestas y las fluidas están conformadas básicamente por Bis-GMA cuyo componente se utiliza para construir su estructura tridimensional, la cual fue propuesta como una alternativa tanto para la amalgama como restauraciones de cerámica y oro, sin embargo, debido a consideraciones estéticas y toxicológicas, sin embargo, numerosos estudios indican que, éste agente puede ser liberado a la cavidad bucal a través de lixiviados y más aún cuando existe una polimerización incompleta del adhesivo dental, lo cual va a inducir una variedad de efectos biológicos adversos y se ha demostrado encontrarse en orina humana, suero, plasma materno y fetal, líquido amniótico, placenta, y el tejido adiposo, según Acevedo<sup>18</sup> Lee<sup>17</sup>; y en muestras de sangre y leche materna, Varayoud<sup>19</sup>; también hay reportes donde se cataloga como un agente alergénico, tóxico y de efectos mutagénicos tanto in-vivo como in-vitro según Kloukos.<sup>20</sup> de acuerdo a la gran capacidad tóxica que tiene éste agente primordial del adhesivo dental, y que a lo antes descrito, nuestro estudio reveló una evidencia estadística en la que los valores obtenidos en la viabilidad celular de los pacientes con presencia de cáncer es menor por lo tanto se mostró una diferencia estadísticamente significativa (valor  $p < 0.0001$ ) con respecto a los pacientes sanos.

Cuando en nuestra práctica clínica se cementa un retenedor fijo, unos topes oclusales, ó una operatoria dental, entre múltiples aplicaciones odontológicas, utilizamos el adhesivo dental como agente de unión entre la resina y el sustrato dentario sobre la superficie del diente que está gravada, para ello se aplica aire con la jeringa triple para permitir que el adhesivo dental, compuesto por Bis-GMA penetre en los prismas del esmalte para que produzca mayor adherencia, situación que hace, que éste adhesivo se disperse hacia la encía libre y pueda migrar hacia el torrente sanguíneo, por otro lado el paso de los monómeros a través de la dentina es facilitado por los microtúbulos presentes en su estructura, y después de la difusión, dichos monómeros pueden migrar dentro del torrente sanguíneo lugar donde se encuentran, los leucocitos polimorfonucleares quienes tienen la capacidad de adherirse, deformarse, desplazarse, fagocitar u destruir a microorganismos y agentes extraños, además de secretar mediadores de la inflamación, y los cuales a través de diapedesis, pueden pasar entre los intersticios de las células endoteliales y salir de los vasos sanguíneos a los tejidos Rojos.<sup>9</sup> O al surco gingival o la encía, para combatir a ésta sustancia evitando así daño al organismo, pero la toxicidad que presenta éste agente hace que sean eliminados y pueda existir el paso libre de éste agente a la sangre, en nuestro estudio observamos que éste adhesivo, juega un papel de alta toxicidad para los LPMN,

observamos que éste adhesivo, juega un papel de alta toxicidad para los LPMN, indistintamente de la condición sistémica en que se encuentre el paciente, siendo aún más tóxico en los inmunodeprimidos, en donde la muerte celular fue de casi el 100%.

Por último estudios realizados sobre linfocitos humanos han demostrado que el Bis-GMA es genotóxico para este tipo de células, evocando la tasa más alta en formación de roturas de ADN de doble cadena, en los fibroblastos gingivales humanos, lo que conlleva a la replicación del ADN, el ciclo celular y la supresión de la apoptosis a través del bloqueo del P53, quien es una proteína supresora de tumores.<sup>18</sup>

El modelo in-vitro utilizado en este estudio, fue valioso para analizar el efecto que produce el Bis-GMA como principal componente del adhesivo dental sobre los leucocitos polimorfonucleares. El trabajo de laboratorio ya nos había confirmado lo que en realidad las estadísticas corroborarían, que la viabilidad celular se vio afectada en el momento que se manejó el agente de estudio, sin importar el estado sistémico en el que se presenten los pacientes. De acuerdo al grupo control con presencia y ausencia de cáncer se encontró que definitivamente el estado sistémico de un paciente también influye, en el momento de ajustar la viabilidad celular y que al momento de aplicar el Bis-GMA, es ya un determinante, que éste es un agente tóxico para las células en este caso los leucocitos polimorfonucleares, siendo la segunda línea de defensa después de la piel y la mucosa.

## Referencias

- Bowen RL. Dental filling material comprising vinyl silane treated fused silica and consisting of the product of bisphenol and glycidyl metacrilate. US patent. 1962; 3000, 112.
- Gioka C, Bourauel C, Hiskia A, Eliades G. Light-cured or chemically cured orthodontic adhesive resins? A selection based on the degree of cure, monomer leaching, and cytotoxicity. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005; 127: 413-9.
- Olea N, Pulgar R, Pérez P, Olea-Serrano F, Rivas A, Novillo-Fetrell A, Pedraza V, Soto A, Sonnenschein C. Estrogenicity of Resin-based Composites and Sealants Used in Dentistry. *Environmental Health Perspect.* 1996; 104 (3):298-305.
- Ahrari F, Tavakkol J, Poosti M, Brook A. Cytotoxicity of orthodontic bonding adhesive resins on human oral fibroblasts. *European Journal of Orthodontics.* 2010; 32 (6): 688-92.
- Delfosse V, Grimaldi M, le Maire A, Bourquet W, Balaquer P. Nuclear receptor profiling of bisphenol-A and its halogenated analogues. *Vitam Horm.* 2014; 94: 229-51.
- Kotyka MW, Willshireb WA. An investigation into bisphenol-A leaching from orthodontic materials. *Angle Orthodontist.* 2014; 84: 516-20.
- Willhite C, Ball G, McLellan C. Derivation of a bisphenol A oral reference dose (RfD) and drinking-water equivalent concentration. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2008; 11(2): 69-146.
- Moilanen LH, Dahms J, Hoberman A. Reproductive toxicity evaluation of the dental resin monomer bisphenol A glycidyl methacrylate (CAS 1565-94-2) in mice. *Int J Toxicol.* 2013; 32 (6): 415-425
- Rojas W. *Inmunología de Rojas.* 15th ed. Dr. Adolfo León Gonzales Rodriguez M,M, Editor. Medellín Colombia.: Corporación para Investigaciones Biológicas. 2010.
- Goodson W, Luciani M, Sayeed S, Jaffee I, Moore D, Dairkee S. Activation of the mTOR pathway by low levels of xenoestrogens in breast epithelial cells from high-risk women's. *Carcinogenesis.* 2011; 32:1724-33.
- Drozd K, Wysokinski D, Krupa R, Wozniak K. Bisphenol A-glycidyl methacrylate induces a broad spectrum of DNA damage in human lymphocytes. *Arch Toxicol.* 2011; 85, 1453-61.
- Rossouw JE, Anderson G, Prentice R, LaCroix A, Kooperberg C, Stefanick M, et al. Risks and benefits of estrogen plus from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.*2002; 288 (3): 321-33.
- Dairkee S, Luciani-Torres M, Moore D, Goodson W. Bisphenol-A-induced inactivation of the p53 axis underlying deregulation of proliferation kinetics, and cell death in non-malignant human breast epithelial cells. *Carcinogenesis.* 2013; 34:703-12
- Vandenberg L, Maffini M, Wadia P, Sonnenschein C, Rubin B, Soto A. Exposure to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol-A alters development of the fetal mouse mammary gland. *Endocrinology.* 2007; 148 (1):116-27.
- Tharp AP, Maffini M, Hunt P, VandeVoort C, Sonnenschein C, Soto A. Bisphenol A alters the development of the rhesus monkey mammary gland. *Proc Natl Acad Sci.* 2012; 109: 8190-95.
- Izzotti A, Kanitz S, D'Agostini F, Camoirano A, De Flora S. Formation of adducts by bisphenol A, an endocrine disruptor, in DNA in vitro and in liver and mammary tissue of mice. *Mutat Res.* 2009; (1-2): 28-32.
- Lee H, Pyo M, Yang M. Set, a Putative Oncogene, As a Biomarker for Prenatal Exposure to Bisphenol A. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.*2012; 13 (6): 2711-5.
- Acevedo N, Davis B, Schaeberle C, Sonnenschein C, Soto A. (2013) Perinatally Administered Bisphenol A as a Potential Mammary Gland Carcinogen in Rats. *Environmental Health Perspectives.* 2013; 121(9) : 1040-45.
- Varayoud J, Ramos J, Muñoz del Toro M, Luque E. Chapter Ten. Long-Lasting Effects of Neonatal Bisphenol A Exposure on the Implantation Process. *Vitamins & Hormones.* 2014; 94: 253-75.
- Kloukos D, Pandis N, Eliades T. Bisphenol A-glycidyl methacrylate induces a broad spectrum of DNA damage in human lymphocytes. *Arch Toxicol.* 2011; 5:1453-61.