







## Micronúcleos y anomalías nucleares en células epiteliales orales: herramienta eficaz y sencilla en la detección temprana de individuos altamente susceptibles a la inestabilidad genómica

## Micronuclei and nuclear abnormalities in oral epithelial cells: effective and simple tool in early detection of individuals highly susceptible to genomic instability

Torres Bugarín, O.<sup>1</sup> , Santiago Martínez, R.<sup>1</sup> , González Barajas, A. J.<sup>1</sup> ,  
Ríos Esquivel, P. E.<sup>1</sup> , Ramos Ibarra, M.L.<sup>2</sup> , Arellano García, M.E.<sup>3\*</sup> 

<sup>1</sup> Laboratorio de Evaluación de Genotóxicos. Departamento de Medicina Interna II, Facultad de Medicina. Unidad Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México.

<sup>2</sup> Laboratorio de Toxicología Genética. Departamento de Salud Pública, División Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

<sup>3</sup> Laboratorio de Genotoxicología Ambiental, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, 22860, México.



### Please cite this article as/Como citar este artículo:

Torres Bugarín, O., Santiago Martínez, R., González Barajas, A. J., Ríos Esquivel, P. E., Ramos Ibarra, M.L., Arellano García, M.E. (2024). Micronuclei and nuclear abnormalities in oral epithelial cells: effective and simple tool in early detection of individuals highly susceptible to genomic instability. *Revista Bio Ciencias*, 11, e1650.

<https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1650>

### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: February 26<sup>th</sup> 2024.

Accepted/Aceptado: May 21<sup>th</sup> 2024.

Available on line/Publicado: June 12<sup>th</sup> 2024.

## RESUMEN

Los micronúcleos pueden formarse en cualquier célula en división. Estos son pequeños cuerpos citoplasmáticos que contienen DNA que causan grandes problemas pleiotrópicos. Son uno de los biomarcadores más estudiados de genotoxicidad, inestabilidad y caos genético. La membrana micronuclear se rompe con facilidad y al liberar al DNA al citoplasma, entonces este estimula crónicamente al sistema inmunitario innato, la senescencia y la apoptosis. El DNA tiene el potencial de reorganizaciones masivas y durante la mitosis o meiosis re-incorporarse al núcleo y así en un solo evento introducir múltiples mutaciones a las células hijas, generar inestabilidad y caos genómico; propiciando entonces que estas rápidamente se puedan malignizar. Específicamente, las células micronucleadas del epitelio oral son un “sensor interno” temprano a estos tipos de daño y si el 90 % de todos los cánceres son de origen epitelial, entonces la mucosa bucal ofrece una oportunidad única altamente eficiente, indolora, de fácil ejecución y económica para monitorear a individuos en riesgo; incluso permite evaluar otros biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad. Por ello, el objetivo de esta revisión-opinión es destacar causas y consecuencias de los micronúcleos, y su aplicabilidad en mucosa oral en la detección oportuna de individuos altamente susceptibles a la inestabilidad genómica.

**PALABRAS CLAVE:** Micronúcleos, genotoxicidad, inestabilidad genómica, susceptibilidad, epitelio oral.

### \*Corresponding Author:

**Olivia Torres-Bugarín.** Laboratorio de Evaluación de Genotóxicos. Departamento de Medicina Interna II, Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Guadalajara. Montevideo Avenue, 3035, Zapopan. 44100, Zapopan, Jalisco, México. Teléfono: (333) 808 5766. E-mail: [oliviatorres@hotmail.com](mailto:oliviatorres@hotmail.com). | **María Evarista Arellano-García.** Laboratorio de Genotoxicología Ambiental, Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California. Carretera Transpeninsular, 3916, Playitas. 22860, Ensenada, Baja California, México. Teléfono: [01 (686) 551-9497] E-mail: [evarista.arellano@uabc.edu.mx](mailto:evarista.arellano@uabc.edu.mx).

---

## ABSTRACT

---

Micronuclei can form in any dividing cell. These are small cytoplasmic bodies containing DNA that cause major pleiotropic problems. They are one of the most studied biomarkers of genotoxicity, instability, and genetic chaos. The micronuclear membrane is easily ruptured and when DNA is released into the cytoplasm, it then chronically stimulates the innate immune system, senescence, and apoptosis. DNA has the potential for massive rearrangements and, during mitosis or meiosis, to reincorporate into the nucleus and thus in a single event introduce multiple mutations to daughter cells, generating genomic instability and chaos; thus allowing them to rapidly become malignant. Specifically, the micronucleated cells of the oral epithelium are an early “internal sensor” for these types of impairment. If 90 % of all cancers are of epithelial origin, then the oral mucosa offers a unique, highly efficient, painless, easy-to-perform, and inexpensive opportunity to monitor at-risk individuals; it even allows the evaluation of genotoxicity and cytotoxicity biomarkers. Therefore, this review aims to highlight the causes and consequences of micronuclei and their applicability in oral mucosa for the timely detection of individuals highly susceptible to genomic instability.

---

**KEY WORDS :** Micronuclei, genotoxicity, genomic instability, susceptibility, oral epithelium.

---

## Introducción

El DNA porta y transmite la información genética de generación en generación, y el daño a esta biomolécula es una de las causas de la degeneración celular que acompaña a los procesos patológicos, de envejecimiento y de apoptosis. Por lo tanto, su desequilibrio tiene grandes consecuencias tanto para la funcionalidad como para la preservación de la célula y los organismos.

La inestabilidad genómica se caracteriza por el incremento de la tasa normal de mutaciones — cambios en el DNA al azar, permanentes y heredables, sobre células somáticas o germinales, en células embrionarias o adultas—, las que suelen tener efectos nocivos sobre las funciones celulares (López-Gil *et al.*, 2023). Es una característica distintiva de algunas enfermedades hereditarias, crónico-degenerativas como las autoinmunes y el cáncer, en este, define su composición genómica y determina su comportamiento, agresividad y respuesta al tratamiento (Chen *et al.*, 2022; López-Gil *et al.*, 2023; Di Bona & Bakhoum, 2024). Las causas de la inestabilidad genómica pueden ser alteraciones genómicas y epigenéticas, defectos de reparación, estrés en la replicación, el mal ensamblaje del huso y la formación de micronúcleos. Y si bien, la asociación entre la inestabilidad genómica, el cáncer y los micronúcleos es reconocida desde hace mucho tiempo, es hasta ahora que se comprenden un poco más los mecanismos

que rigen la formación de los micronúcleos y su papel en la progresión tumoral (Di Bona & Bakhoun, 2024).

Ahora bien, un biomarcador se define como “una característica a nivel celular o molecular que mide y evalúa objetivamente procesos biológicos normales, patogénicos, o respuestas a una exposición o incluso intervenciones terapéuticas”, este se interpreta como indicador del estado de salud, de esperanza de vida o del riesgo de enfermedad, y se clasifican como de exposición, efecto y susceptibilidad (Sauer *et al.*, 2018; Strimbu & Tavel, 2010).

- *Biomarcador de exposición*; permiten evaluar en un organismo la presencia de xenobióticos, metabolitos o productos derivados (Sauer *et al.*, 2018; Strimbu & Tavel, 2010).
- *Biomarcador de efecto*; evalúan la alteración bioquímica, fisiológica o de comportamiento producida en el organismo como resultado de la exposición a xenobióticos, y son asociadas a procesos patológicos (Sauer *et al.*, 2018; Strimbu & Tavel, 2010).
- *Biomarcador de susceptibilidad*; indican sensibilidad individual, es la capacidad de un organismo para responder a la exposición a un agente extraño (Sauer *et al.*, 2018; Strimbu & Tavel, 2010).

En este contexto, los micronúcleos, ya que derivan del daño citogenético, tradicionalmente se utilizan como biomarcadores de “efecto genotóxico” y es quizá el más utilizado, no obstante, por sus causas y consecuencias también lo son de exposición y susceptibilidad.

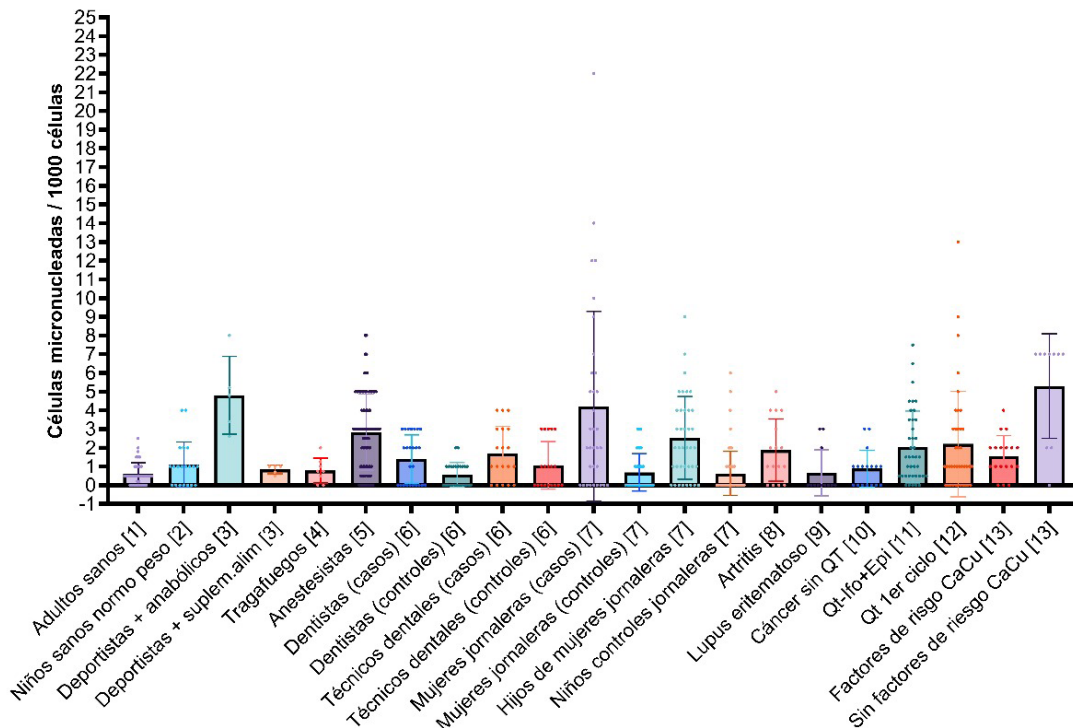
### **Micronúcleos: características**

Entre los biomarcadores de daño al DNA y la inestabilidad cromosómica más estudiados se encuentran los micronúcleos, estos se derivan de la mala segregación cromosómica y por ello son pequeñas masas de DNA nuclear que se encuentran erradamente en el citoplasma, sin conexión con el núcleo y que con ayuda del microscopio se observan como diminutos cuerpos similares al núcleo, pero más pequeños, de ahí su denominación. Históricamente, se utilizan como biomarcadores de daño citogenético, empero, recientemente se descubrió que es una estructura activa que causa grandes complicaciones pleiotrópicas [*pleio* (muchas) y *trepein* (influencias)] ya que activan sensores de la señalización inflamatoria crónica e inducen, senescencia prematura, apoptosis y caos genético (López-Gil *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2020; Krupina *et al.*, 2021). Por ello, evaluar la frecuencia de células micronucleadas en poblaciones vulnerables a genotóxicos es una alternativa preventiva, de bajo costo, con muchas facilidades técnicas para ser aplicada tanto a individuos como a poblaciones en riesgo (Figura 1) (Fenech *et al.*, 2020; Torres-Bugarín & Arias-Ruiz, 2023).

Aunque las características particulares de los micronúcleos son muy diversas como, por ejemplo, el tamaño, origen, la condensación de la cromatina, presencia de lámina nuclear o expresión génica, hay características generales que los definen (Shimizu, 2011; Schmid, 1975).

**Definición:** un micronúcleo o cuerpo de Howell-Jolly es un pequeño cuerpo de cromatina con alta probabilidad de reordenamiento genómico, ubicado erróneamente en el citoplasma envuelto en una membrana imperfecta. Tiene textura, plano focal y tinción similar al núcleo principal, pero por regla definitoria es más pequeño y sin vínculo con éste; y por ello se denomina micronúcleo (Schmid, 1975).

**Tamaño:** menor a un  $\frac{1}{3}$  del tamaño del núcleo principal (Schmid, 1975).



**Figura 1. Frecuencia de células micronucleadas en diferentes grupos de estudios. Atención a los valores que están fuera de la media, son los casos de interés, estos son individuos altamente vulnerables a la inestabilidad genómica.**

Número entre corchetes es la fuente original de los datos. (suplem. alim-suplemento alimenticio, QT-Quimioterapia, Ifo-Ifosfamida, Epi-Epirrubicina, CaCu- Cancer cervicouterino). (Jara-Ettinger *et al.*, 2015 [1]; Vizcarra, 2005 [2]; Torres-Bugarín *et al.*, 2007 [3]; Torres-Bugarín *et al.*, 1998 [4]; Torres-Bugarín *et al.*, 2016 [5]; Molina-Noyola *et al.*, 2019 [6]; Castañeda-Yslas *et al.*, 2016 [7]; Ramos-Remus *et al.*, 2002 [8]; Rodríguez-Vázquez *et al.*, 2000 [9]; Torres-Bugarín *et al.*, 2000 [10]; Torres-Bugarín *et al.*, 2003 [11]; Torres-Bugarín *et al.*, 2013c [12], Flores-García *et al.*, 2018 [13]).

**Origen:** se pueden originar en cualquier fase del ciclo celular; durante la mitosis o en la pre-mitosis, post-mitosis e incluso en la interfase (Guo *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2020), la causa son diversos agentes aneugénicos o clastogénicos, y el efecto de estos se pueden diferenciar por el

tamaño del micronúcleo y presencia del centrómero o cinetocoro (Migliore *et al.*, 1996; Afshari *et al.*, 1994). Los aneugénicos causan retraso anafásico de cromosomas enteros, ya sea daño al huso mitótico, defecto de cohesión de las cromátidas hermanas, unión inadecuada entre microtúbulos y cinetocoro, por defecto de condensación cromosómica o citocinesis anormal. Los clastógenos ocasionan pérdida de fragmentos de cromatina acéntrica, por la rotura de doble cadena (Schmid, 1975; Guo *et al.*, 2019). Otros mecanismos descritos son errores en la reparación, la formación de puentes de cromatina durante anafase que da lugar a cromosomas dicéntricos (Shimizu, 2011), sitios frágiles que promueven la formación de rupturas y puentes de doble cadena (Li & Wu, 2020; Umbreit, *et al.*, 2020) y la amplificación génica en células interfásicas denominados dobles minutos, estos cuerpos extracromosómicos circulares carecen de centrómero y telómeros, pueden adherirse a los cromosomas de las células hijas y segregarse de forma estable, y son frecuentes en células cancerosas (Shimizu, 2011; Maass *et al.*, 2018).

**Destino:** una vez formado el micronúcleo, el material genético que contiene puede reorganizarse y en ciclos celulares posteriores, puede ser excluido de la célula o incorporarse al genoma de las células hijas durante la siguiente división celular, incluso estos fenómenos podrían estar entrelazados (Kirsch-Volders *et al.*, 2020).

**Cromatina:** algunos micronúcleos exhiben cromatina altamente condensada, lo que hace poco probable su expresión o replicación (Maass *et al.*, 2018), estos se pueden formar a partir de puentes de cromatina (Shimizu, 2011). En los que la cromatina se encuentra muy relajada podría ocurrir la transcripción y replicación (Hintzsche *et al.*, 2017; Shimizu, 2011).

**Membrana:** la función de la membrana nuclear es resguardar al genoma; en contraste la membrana micronuclear no cumple esta función ya que es muy frágil y está destinada a romperse sin posibilidades de ser reparada. Por su naturaleza, es altamente inestable al no estar vinculada al núcleo ni al retículo endoplásmico y presenta grandes deficiencias de las proteínas estructurales y de los poros, estos generalmente están desarticulados (Maass *et al.*, 2018). Entonces, debido a su evidente fragilidad, la fuga de DNA al citoplasma es inexorable, hecho que desempeña un papel crucial en procesos patológicos, senescencia y apoptosis (Guo *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2020; Maass *et al.*, 2018).

**Transporte:** dado que los poros no funcionan correctamente, el transporte no puede regularse (Hintzsche *et al.*, 2017).

**Proteosoma:** están presentes solo en algunos micronúcleos, pero no son activos debido a la falta de subunidades de procesamiento y factores de ubiquitinación (Maass *et al.*, 2018).

**Expresión génica y reparación:** en el micronúcleo la expresión génica y la reparación del DNA es reducida, defectuosa y asincrónica, esto se debe en parte a la disminución significativa o ausencia del factor de iniciación de la replicación y las enzimas necesarias para esta. Aunque no hay replicación en los micronúcleos carentes de lámina (Hintzsche *et al.*, 2017). Los cromosomas que sufrieron reordenamiento genómico se distribuyen de forma desigual entre las células hijas, esto causa asimetría en las copias (Hintzsche *et al.*, 2017; Zhang, *et al.*, 2015). La transcripción

se ha observado solo en micronúcleos que contienen cromosomas completos o derivados de Dobles Minutos (Shimizu, *et al.*, 2000).

*Prueba de micronúcleos:* metodológicamente su evaluación es sencilla, su aplicación es muy versátil, permite estudios transversales, así como longitudinales, sus resultados son altamente confiables y se obtienen en plazos cortos; incluso otra bondad es que comparativamente con otros estudios citogenéticos, los costos son relativamente económicos (Torres-Bugarín *et al.*, 2014a; Torres-Bugarín *et al.*, 2015). Se utiliza *in vitro* e *in vivo* en laboratorio o campo, para revelar genotóxicos, mutagénicos y teratógenos, incluso es un protocolo de prueba establecido por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) (OECD, 2016).

### **Micronúcleos: consecuencias biológicas**

Si bien, se comprenden algunos de los mecanismos que subyacen en la formación de los micronúcleos y se están desentrañando los procesos de eliminación; su organización funcional y sus consecuencias aún son difíciles de entender, y la principal problemática radica en conocer el destino que tendrán los micronúcleos ya que de ello derivan las consecuencias biológicas. En general se puede decir que estos biomarcadores afectan diferentes funciones celulares las que pueden desencadenar apoptosis, senescencia, alteración en los puntos de control del ciclo celular y sistemas de reparación, reordenamiento masivo y caótico del DNA, así como cambios citoplasmáticos y la sobre expresión de radicales libres, también pueden encender y mantener crónicamente la respuesta inmune innata al igual que los procesos inflamatorios, todo ello enfatiza el papel de los micronúcleos en procesos patológicos (Guo *et al.*, 2019; Maass *et al.*, 2018; Terradas *et al.*, 2010).

Las células micronucleadas podrían no representar riesgo en el supuesto caso de que la célula no sobreviva, pero todo será diferente si continúa la división celular; en cualquier caso, su destino difiere según el inductor micronucleogénico (clastogénico o aneugénico), su linaje (primaria o tumoral), la extensión del daño genómico, la funcionalidad del cinetocoro o de la membrana micronuclear. De tal suerte que un micronúcleo puede ser eliminado mediante extrusión o eliminarse "*in situ*" por mecanismos lisosomales o apoptóticos específicos para el mismo. Sin embargo, en el caso de que persista en la siguiente división, podrían originarse dos células sin o con micronúcleo (Maass, 2018; Shimizu, 2011).

Por otro lado, si el micronúcleo se mantiene en el citoplasma puede impedir o retrasar la siguiente mitosis, y si se rompe la membrana, entonces el DNA se escapa al citoplasma y enciende señales de alerta, como la respuesta inmune innata crónica e inflamación crónica, o puede inducir autofagia, senescencia o apoptosis tempranas, de tal manera que el micronúcleo en sí mismo pudiera llegar a ser un inductor directo del proceso del control y eliminación de las células micronucleadas (Sommer *et al.*, 2020; Mohr *et al.*, 2021).

Otro punto es que el DNA micronuclear puede sufrir reordenamientos masivos y pérdidas genómicas importantes mediante cromosomas aneuploides (—cromoplexia, cromotripsis y cromosomas aneuploides—), y durante la siguiente división celular podría reintegrarse a la metafase, y al

concluir la mitosis quedar incluido al núcleo de las células hijas, las que no serían genéticamente idénticas, sufrirán caos e inestabilidad genética y tendrán alto riesgo de malignizarse. Por otro lado, y no menos importante, es lo que ocurre con las células hermanas que han perdido material genético como consecuencia de la formación de micronúcleos, si estas células no se eliminan, van a perpetuar líneas celulares con material genético incompleto (Hintzsche *et al.*, 2017; Kirsch-Volders *et al.*, 2020).

### **Micronúcleos: DNA citoplasmático y respuesta inmunitaria innata**

El material genético de los eucariotas se ubica en el núcleo, mitocondrias o cloroplastos; y su presencia en el citosol ocurre por daño en alguno estos organelos, por la ruptura de la membrana de los micronúcleos o por microorganismos o virus. Entonces, la presencia de DNA en el citoplasma es una señal de peligro, y es detectado y eliminado por el sistema inmunitario innato; particularmente por el eje cGAS-STING (GMP-AMP sintasa cíclica - STimulator of INterferon Genes; STING o INF), este identifica patógenos invasores o DNA de doble cadena (dsDNA) propio o extraño; concretamente la enzima cGAS identifica y se une al DNA citosólico, lo cual inicia el proceso de señalización celular para la activación inmune que destruye específicamente este DNA; no obstante la activación de la vía de señalización de cGAS-STING origina la respuesta inmunitaria proinflamatoria y la activación prolongada de cGAS. Este proceso induce la expresión de este grupo de genes y el aumento de interferones, interleucinas IL-6, IL-8 otras quimiocinas asociadas a la senescencia y al alto riesgo de trastornos autoinmunitarios (Hintzsche *et al.*, 2017; Kirsch-Volders *et al.*, 2020). Si estas células no son detectadas y la producción de quimioquinas no se resuelve, persiste el estado proinflamatorio que genera un ciclo vicioso de inflamación y daño oxidativo que termina por afectar al DNA, tal daño, induce la formación de micronúcleos y activa la cromosomogénesis. Estos eventos tienden a aumentar con la edad, son dependientes del género y contribuyen a enfermedades autoinmunes, muy probablemente debido a la incapacidad del sistema inmunitario para distinguir el DNA propio liberado y las proteínas nucleares asociadas a antígenos extraños (Kirsch-Volders *et al.*, 2020).

### **Micronúcleos: inestabilidad genómica**

La inestabilidad genómica involucra el aumento de cambios puntuales, numéricos y estructurales, es característica de la tumorigénesis temprana, facilita el crecimiento celular incontrolado, la progresión del cáncer, la heterogeneidad genética y se asocia a la resistencia a antineoplásicos (Siri *et al.*, 2021). El desarrollo del cáncer ocurre por la acumulación de mutaciones, las que podrían ocurrir progresivamente o de un solo golpe (Siri *et al.*, 2021; Levine & Holland, 2018). En otro sentido, los micronúcleos eran considerados biomarcadores pasivos de daño al DNA, pero hoy se sabe que también son promotores de inestabilidad cromosómica, estas estructuras son propensas a reordenamiento y pérdida masiva de material genético, para luego, durante la división celular, incorporarse a los núcleos hijos, y así, de un solo golpe, dos células adquieren múltiples mutaciones (Terradas *et al.*, 2016), eventos que pueden ocurrir espontáneamente o tras la exposición a xenobióticos, de algún factor estresante como genético, metabólico, psicosocial, ambiental o algún estilo de vida (Figura 1), (Torres-Bugarín *et al.*, 2015; Ramos-Ibarra *et al.*, 2020). Como por ejemplo, se detectaron células micronucleadas en jornaleras y sus hijos

expuestos a altas concentraciones de plaguicidas (Castañeda-Yslas *et al.*, 2016), traga fuegos quienes están expuestos a hidrocarburos (Torres-Bugarín *et al.*, 1998), soldadores, expuestos a vapores de metales pesados (Jara-Ettinger *et al.*, 2015), dentistas y técnicos dentales (Molina-Noyola *et al.*, 2019), anesthesiólogos (Torres-Bugarín *et al.*, 2016), también en fisiculturistas que consumen anabólicos (Torres-Bugarín *et al.*, 2007) y en personas con desórdenes alimenticios como la bulimia y anorexia (Torres-Bugarín *et al.*, 2014b). Igualmente se han identificado en personas que sufren de diferentes enfermedades crónico degenerativas como las definidas como síndromes de inestabilidad genómica [entre ellas el síndrome de Bloom (Gratia *et al.*, 2019), ataxia espinocerebelar tipo 2 (Cuello-Almaraes *et al.*, 2017)], cáncer (Wu & Lu, 2012; Flores-García *et al.*, 2014; Flores-García *et al.*, 2018) o enfermedades autoinmunes (Torres-Bugarín *et al.*, 2015; Mihaljevic *et al.*, 2018), renales (Pastor *et al.*, 2018), neurodegenerativas [entre ellas Ataxia telangiectasia, enfermedad de Parkinson, Alzheimer así como los síndromes de Down, Cockayne y Werner (Petrozzi *et al.*, 2002; Migliore *et al.*, 2011; Thomas & Fenech, 2015)] incluso en la enfermedad de células falciformes (Naga *et al.*, 2016), cardiovasculares (Andreassi *et al.*, 2011) periodontitis (Borba *et al.*, 2019; Tadin *et al.*, 2019), mucopolisacáridos tipo Hunter (Diaz-Jacques *et al.*, 2018) y síndrome de ovario poliquístico (Karataylı *et al.*, 2017), entre muchas otras.

### **Prueba de micronúcleos: uso de modelos, órganos y tejidos**

Para la aplicación de la prueba de micronúcleos se cuenta con múltiples modelos y amplia gama de órganos y tejidos entre los que destaca:

*Eritrocitos de médula ósea y sangre periférica:* los ensayos con la técnica de micronúcleos se iniciaron en médula ósea, luego se modificó para aplicarse en sangre periférica, y posteriormente en otros tejidos. Debido a que el uso en eritrocitos medulares implica el sacrificio del organismo, la prueba se limitaba a especies de laboratorio o a recuperación de muestras obtenidas con fines de diagnóstico; en contraste la técnica realizada en sangre periférica se puede aplicar sin poner en riesgo la vida del organismo ya que solo se requiere de unas gotas de sangre. Esta última, en general es una técnica fácilmente reproducible, y que permite estudios transversales y longitudinales en cualquier vertebrado que cumpla con las características de un buen biomarcador, para ello se contabilizan tanto eritrocitos jóvenes —policromáticos—, para evaluar genotoxicidad y citotoxicidad (mielosupresión) aguda; así como en eritrocitos normocrómicos, en exposición crónica (Fenech *et al.*, 2020, Kasamoto, *et al.*, 2013).

*Cultivo de linfocitos (CBMN- micronúcleos con bloqueo de la citocinesis) con bloqueo de la citocinesis:* es una prueba validada para evaluar mutagenicidad en células binucleadas y mide la rotura o pérdida cromosómica, puentes nucleoplásmicos y yemas nucleares (Fenech, 2020).

*Células epiteliales exfoliadas:* la obtención de la muestra es de fácil acceso, es mínimamente invasiva y el costo es relativamente bajo. Es aplicable en los epitelios estratificados no queratinizados como los de mucosa oral (mejillas, labios, encías, lengua), nasal, vejiga y cervix. Específicamente, en tejido de mucosa ora, los micronúcleos se forman en las células en división de la capa basal, éstas migran a la superficie en el transcurso de 4 a 14 días, dato que se debe tomar en cuenta para la interpretación de resultados (Torres-Bugarín & Arias-Ruíz, 2023).



## Otros órganos- tejidos menos usados

**Piel:** esta técnica permite la evaluación del riesgo de foto-genotoxicidad *in vivo* e *in vitro* asociado a la exposición a agentes químicos y físicos. El modelo EpiDerm™, es epidermis humana reconstruida a partir de queratinocitos humanos normales cultivados sobre una matriz de colágeno en la interfaz aire-líquido, histológicamente es similar a la epidermis humana *in vivo*. En este modelo los cultivos se exponen al agente a probar, se calcula el índice de replicación en 500 células para evaluar citotoxicidad y en 1000 células binucleadas para evaluar genotoxicidad. Para ello se cosechan las células de la capa celular basal y se resuspenden para luego centrifugar, y con el botón se preparan los frotis, para ser analizados (Kidd *et al.*, 2021).

**Colon e intestino:** estos órganos son el destino de muchos carcinógenos por ello es necesario evaluar riesgos por el consumo de sustancias que entran a los organismos a través de la cadena alimentaria, como por ejemplo los pesticidas, aditivos y conservadores, incluso fármacos. En este caso, se aplica en cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina, se contabilizan las células epiteliales columnares del lumen de colon. O bien, el colon se introduce en solución hipotónica, y mediante lavados se separan las células epiteliales del músculo liso, para luego ser suspendidas y centrifugadas, con el botón se preparan los frotis. Se establece la frecuencia de células micronucleadas en al menos 1,000 células (Morita *et al.*, 2011; Ohyama, 2019; Fenech *et al.*, 1993).

**Hígado:** es un órgano de respuesta carcinogénica, pero en animales adultos las células hepáticas se replican muy lentamente, por ello, el ensayo de micronúcleos se aplica en organismos con hepatectomía parcial o con hepatotóxicos para así estimular la división celular. Una alternativa es emplear el hígado de roedores jóvenes (5-6 semanas de edad), en donde hay una división celular activa. Para ello los hepatocitos se aíslan, suspenden y centrifugan, el botón es resuspendido con buffer, para luego hacer el extendido celular, el que se fijan, tiñen y analizan bajo el microscopio al menos 1,000 hepatocitos (Morita *et al.*, 2011; Uno *et al.*, 2015).

**Bazo (reticulocitos- esplenocitos):** el bazo es un órgano linfoide, por ello es excelente para estudiar reticulocitos. Este se lava con solución salina tamponada con fosfato con 10 % de suero fetal bovino, las células se disocian con este suero y se centrifuga a 800 rpm/5 min. En el caso de esplenocitos, se extrae el bazo, se macera, se centrifugan y se cultivan, para su posterior análisis (Moore *et al.*, 1995; Shindo *et al.*, 1983).

**Pulmón:** es uno de los órganos destino de carcinógenos inhalados, para su estudio los procedimientos son similares a los utilizados en hepatocitos (Xi *et al.*, 2021).

## Micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas

Stich *et al* (2018) desarrollaron el protocolo para el ensayo de micronúcleos en células exfoliadas de mucosa oral. Su objetivo era evaluar la exposición a estresores celulares relacionados con el trabajo y los estilos de vida. Desde entonces, esta prueba ha sido utilizada con gran

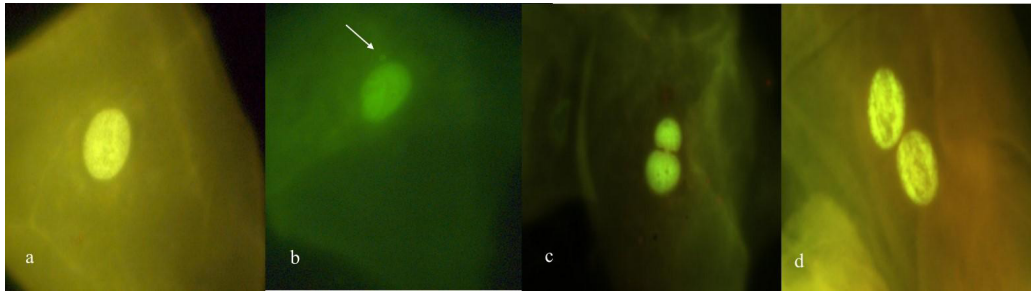
éxito y se ha convertido en una de las más ampliamente empleadas, incluso sus aplicaciones se han extendido a otras mucosas, aunque, con menos éxito, entre ellas son la mucosa nasal, de esófago, bronquios, cérvix y vejiga (Nersesyan *et al.*, 2006; Sommer *et al.*, 2020).

Dentro de las ventajas se incluyen paralelamente al conteo de células micronucleada, que se pueden evaluar otros biomarcadores toxicológicos complementarios (otras anomalías nucleares, figuras 2 y 3), además la toma es mínimamente invasiva e indolora por lo que las implicaciones bioéticas son las más básicas, la metodología es relativamente sencilla, no son necesarios los cultivos celulares ni de instalaciones especializadas, el almacenamiento de muestras es comparativamente simple, asimismo el análisis de extendidos celulares no requiere de mucho tiempo de entrenamiento, los resultados se pueden obtener en plazos cortos al ser altamente confiables y es una metodología relativamente económica (Torres-Bugarín *et al.*, 2014a; Sommer *et al.*, 2020). Se puede aplicar a todo vertebrado, pero el 99 % de los artículos publicados son en seres humanos, y solo el 1 % se han realizado en otros organismos (Benvindo-Souza *et al.*, 2017). De tal manera que la aplicación de la prueba de micronúcleos y otras anomalías nucleares en células exfoliadas se define como una herramienta de uso frecuente para evaluar el daño al material genético y con ello vigilar poblaciones en alto riesgo. Por tanto, la frecuencia de micronúcleos y otras anomalías nucleares en células exfoliadas funcionan como un “dosímetro interno” para estimar el daño cromosómico, la identificación de la inestabilidad genómica, genotoxicidad, citotoxicidad, proliferación y muerte celular (Benvindo-Souza *et al.*, 2017).

Se debe tener presente que la cavidad oral es un punto vulnerable o diana de muchos agentes exógenos por contacto directo, inhalados o ingeridos, incluso refleja cambios indicativos de salud-enfermedad y puede revelar condiciones sistémicas o deficiencia nutricional, además muestra efectos secundarios de algunos fármacos o de toxicomanías y es sabido que algunos de estos estresores son problemas de salud pública. Específicamente, el epitelio de la mucosa oral es de origen ectodérmico y tiene la característica de ser estratificado no queratinizado con ventajas únicas para la aplicación de prueba de micronúcleos, entre ellas la alta proliferación y la baja tasa de reparación del DNA, (Hovhannisyán *et al.*, 2018; Holland *et al.*, 2008; Tolbert *et al.*, 1991), es un epitelio cuyas células son lo suficientemente grandes para identificar fácilmente los micronúcleos y las anomalías nucleares, estas células al descamarse mantienen el núcleo y se colorean fácilmente, (Figuras 2 y 3) (Squier & Kremer, 2001).

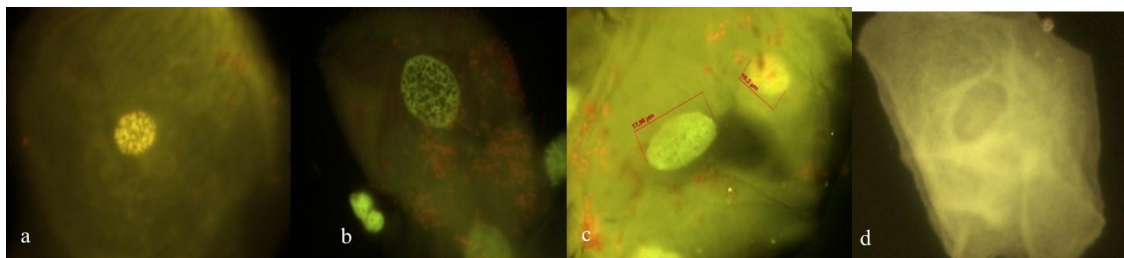
Además de las células normales que se pueden evaluar como biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad son las células micronucleadas, así mismo se pueden contabilizar núcleos lobulados que reflejan daño al DNA y células binucleadas que se originan por daño a la citocinesis (Figura 2a-d).

Conjuntamente, se pueden evaluar algunos marcadores de muerte celular como cariorrexis cromatina condensada, picnosis y cariólisis (Figura 3a-d) (Torres-Bugarín *et al.*, 2013a; Torres-Bugarín *et al.*, 2013b; Torres-Bugarín *et al.*, 2014a; Bonassi *et al.*, 2011; Nersesyan, 2005).



**Figura 2. Células exfoliadas de mucosa oral.**

a) Normal: Son células completamente diferenciadas, son las más grandes, con núcleo bien definido y ovalado, se tiñe uniformemente. b) Micronucleada: Presenta un núcleo principal y una o más estructuras más pequeñas denominadas micronúcleos. De tamaño entre  $\frac{1}{3}$  y  $\frac{1}{6}$  del núcleo principal. La intensidad de la tinción, textura y plano focal es similar a la nuclear, sin superposición o puente. c) Núcleo lobulado “huevo roto”: Presencia de constricción de núcleo, la intensidad de tinción entre los lóbulos nucleares es similar. d) Binucleada: Es una célula con dos núcleos con misma forma, tinción y plano focal, pueden estar en contacto. Debido a alteraciones en la citocinesis. Teñida con acridina naranja, amplificación óptica de 100x con Microscopio Carl Zeiss IVFL Axiostar Plus, filtros de fluorescencia de 450-490 nm. Microfotografías tomadas y donas por Dra. Olivia Torres Bugarín, Laboratorio de Evaluación de Genotóxicos. UAG.



**Figura 3. Células exfoliadas de mucosa oral.**

a) Cariorrexis: Tanto el núcleo como la membrana se observan fragmentadas (a manera de un rompecabezas cuyas piezas se encuentran dispersas), es indicativo de muerte celular. b). Cromatina condensada: La membrana se observa bien definida, pero el núcleo con agregados aglutinados de cromatina e intensamente teñido. c). Núcleo picnótico: Núcleo más pequeño que un núcleo normal y más intensamente teñido. d) Cariolisis: Células con un núcleo carente de material genético (DNA), asociado a la muerte celular en etapa más avanzada. Teñida con acridina naranja, amplificación óptica de 100x con Microscopio Carl Zeiss IVFL Axiostar Plus, filtros de fluorescencia de 450-490 nm. Microfotografías tomadas y donas por Dra. Olivia Torres Bugarín, Lab. de Evaluación de Genotóxicos. UAG

## Micronúcleos: factores que influyen en su frecuencia

Con el objetivo de estudiar y validar como biomarcador predictor de riesgo de cáncer la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas orales en poblaciones con riesgo identificado, se creó el proyecto colaborativo “HUMAN MicroNucleus (HUMNXL)”, el cual es una extensión

del proyecto HUMN creado para el análisis *in vitro* de linfocitos binucleados. En ese proyecto se buscó, entre otras cosas, identificar los factores de confusión que influyen en la frecuencia de células micronucleadas como por ejemplo el papel del estilo de vida, los factores del huésped, las exposiciones ocupacionales, y el estado de salud (Fenech *et al.*, 1999, Fenech *et al.*, 2011; Bonassi & Fenech, 2019). Los resultados de este proyecto mostraron que la frecuencia espontánea de células micronucleadas (valores de referencia) en sujetos sanos no expuestos a agentes químicos genotóxicos o radiación es del 0,74 % (IC del 95 %: 0,52- 1,05), con intervalo de 0,3 y 1,7 %, sin diferencias espontáneas entre sexos y a mayor edad mayor frecuencia de células micronucleadas (prueba de tendencia  $p < 0,001$ ). Sin embargo, se debe considerar que entre poblaciones existe amplia variabilidad. Por otro lado, se ha observado que es un biomarcador muy sensible a exposición de origen laboral, ya que la frecuencia de células bucales micronucleadas es significativamente mayor que el grupo de referencia, en los que destacan los grupos ocupacionales que declararon exposición a disolventes, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y gasolina, arsénico y fármacos antineoplásicos. Con relación al efecto de enfermedades; las oncológicas, no necesariamente en la zona de la cabeza y el cuello, se asocia significativamente con mayor frecuencia de micronúcleos para los cánceres orofaríngeos (FR = 1,72; IC 95 %: 1,19-2,49), los respiratorios (FR = 1,40; IC 95 %: 1,06-1,86) y el resto formando un solo grupo (FR = 1,94; IC 95 %: 1,46-2,59). También se detectó que el tabaquismo induce genotoxicidad significativa cuando se consumen más de 40 cigarrillos al día (FR = 1,37; 95 % CI 1,03-1,82) y no se detectó asociación entre mascar tabaco o betel y la frecuencia de micronúcleos; aunque el valor medio univariante de los masticadores es el doble que el de los controles. Por su parte, no se encontró asociación entre el consumo de alcohol y la frecuencia de micronúcleos. Por otro lado, el consumo de frutas y verduras de hoja verde tienen efecto citoprotector (Consumidores vs no consumidores, 1.17 % frente a 1.99 % en el caso de las frutas, y 1.80 % frente a 2.33 % en el caso de las verduras, respectivamente) (Figura 1) (Fenech *et al.*, 1999, Fenech *et al.*, 2011; Bolognesi & Fenech, 2019). No obstante, en general se puede decir que las consecuencias de la formación de micronúcleos aún están lejos de ser claras (Terradas *et al.*, 2016).

## Discusión

La estabilidad genómica es vital para el correcto funcionamiento celular y la salud de cualquier organismo, no obstante, a lo largo de la vida se está expuesto a un sin fin de genotóxicos ya sea xenobióticos o los liberados por el propio metabolismo celular, los que a menudo silenciosamente alteran esta estabilidad y para cuando es evidente el daño es definitivo. Pero, hasta cierto punto, el efecto es diferente entre especies y entre individuos, lo cual podría depender de factores genéticos, ambientales o estilos de vida, entre otros (Figura 1). De tal suerte que, la identificación de mutaciones que causan inestabilidad cromosómica o enfermedades podría ser un criterio diagnóstico que permita comprender los procesos patológicos y la posible elección del tratamiento.

Entonces, la cuestión es poder identificar oportunamente a aquellos individuos que resulten más susceptibles al daño genético y que por ello serán más propensos al desarrollo

de problemas oncológicos, a la manifestación o aceleramiento de enfermedades complejas o al envejecimiento prematuro. Así que es apremiante contar con técnicas de fácil ejecución y relativamente económicas, que por medio de biomarcadores permitan identificar a tiempo a los individuos más vulnerables de daño genético, y la prueba de micronúcleos y otras anomalías nucleares en mucosa bucal ofrece una oportunidad inigualable. La técnica de micronúcleos en mucosa bucal es ampliamente utilizada a nivel mundial, lo cual es atribuible a todas sus bondades [sencillez metodológica, poco invasiva e indolora durante la recolección de muestras, sensibilidad y economía, entre otras], no obstante, y pese a ello, es necesario destacar algunos aspectos.

En esta situación al realizar estudios de poblaciones en riesgo, como aquellos que investigan los efectos genotóxicos, los métodos estadísticos a menudo no logran identificar de manera específica los casos con valores de micronúcleos y anomalías nucleares que exceden los intervalos de confianza ( $IC = \mu \pm \sigma$ ) o el rango intercuartílico ( $RI = m \pm Q$ ). En su lugar, se procesa la información para obtener medidas descriptivas, como medias, desviaciones estándar o medianas, así como medidas de dispersión que ilustran la variabilidad de la distribución. Luego, se aplican pruebas estadísticas pertinentes, como la prueba t de Student o la U de Mann-Whitney, para determinar si existen diferencias significativas entre los grupos de estudio. En consecuencia, se puede concluir si el objeto de estudio es genotóxico o no, o si tiene un efecto citoprotector, dependiendo del objetivo de la investigación.

Sin embargo, surge la interrogante sobre el destino de los casos atípicos o los datos denominados “outliers” en cada grupo de estudio que ocurren más allá del IC o RI, especialmente aquellos cuyos valores exceden la media más una desviación estándar o el tercer cuartil. Por ejemplo, ¿si no se detectan diferencias significativas entre grupos, se puede inferir que no han sufrido daño debido a la ausencia de efectos estadísticos ( $p < 0.05$ )?

De tal manera que, sin duda en términos generales los valores “atípicos” pueden tener impacto significativo en los resultados de un análisis estadístico o podrían ser errores en los datos (por medición o entrada de datos incorrecta), por tanto, su identificación y corrección pueden mejorar la calidad de los datos y evitar conclusiones erróneas. No obstante, es importante tener en cuenta que el manejo de los valores atípicos depende del contexto y los objetivos del análisis estadístico. En algunos casos, puede ser apropiado eliminarlos o corregirlos, mientras que en otros casos pueden ser de interés y deben ser analizados en detalle. Ya que, en muchos casos, los valores “outliers” en el campo de la biomedicina pueden contener información adicional o representar situaciones excepcionales o únicas en los datos, de tal suerte que en lugar de eliminarlos, su inclusión en el análisis puede proporcionar una comprensión más completa de los fenómenos estudiados. Es por esto que los datos atípicos deben ser interpretados con cuidado y considerados en el contexto clínico y científico adecuado, ya que podrían por ejemplo indicar la presencia de mutaciones genéticas raras o variantes genéticas únicas que pueden estar asociadas con una enfermedad o condición específica, en ensayos clínicos y estudios de eficacia de medicamentos, los valores “outliers” pueden indicar una respuesta inesperada o excepcional al tratamiento y ser el punto de partida para investigaciones adicionales sobre la variabilidad en la respuesta de los pacientes a ciertos tratamientos y ayudar a identificar subgrupos de pacientes que pueden beneficiarse más o menos de un tratamiento específico, o en la farmacovigilancia

y la detección de eventos adversos, los valores atípicos pueden indicar reacciones inusuales o graves a medicamentos o terapias. Estos valores atípicos pueden ayudar a identificar efectos secundarios raros pero significativos y contribuir a la mejora de la seguridad y la eficacia de los tratamientos médicos (Guan & Tibshirani., 2022; Tibshirani, & Hastie, 2007).

Por tanto, es precisamente estos casos los que ahora llaman nuestra atención (Figura 1), pregunta que surge debido a que en este tipo de estudios particularmente cada punto representa una persona, en quienes el daño de hecho existe y la inestabilidad genómica en estos individuos es real y son personas altamente susceptibles, que requieren de atención especial, ya que presentan alto grado de daño a su genoma y que aunque se desconoce con precisión los efectos que a futuro pueda generar la inestabilidad del material hereditario, si se sabe que el riesgo de carcinogénesis es mayor al igual que el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas y que podrían no darles la importancia que se requiere, al quedar su dato perdido en un análisis estadístico, que expresa el comportamiento general de una población.

Por lo tanto, estos sujetos de estudio son los que se deberían de considerar como candidatos perfectos para tomar medidas preventivas, ya que el número de micronúcleos es un biomarcador factible de modificar sus valores mediante diferentes medidas preventivas y hábitos saludables, como por ejemplo la suplementación con diferentes antioxidantes como el ácido fólico (Gómez-Cabrera *et al.*, 2024; Zúñiga-González *et al.*, 2007). Este hallazgo se vuelve trascendente por la aplicación del uso de estos biomarcadores no solo en proyectos de investigación sino también en la práctica clínica.

Entonces, la frecuencia de micronúcleos al ser un biomarcador predictivo de la inestabilidad genómica y sus consecuencias patológicas también es útil para monitorizar la eficacia y seguridad de las intervenciones destinadas a mejorar la salud genómica. Por ejemplo, la deficiencia o el exceso de micronutrientes puede tener efectos modificadores sobre la integridad genómica, ya que, los micronutrientes proporcionan cofactores necesarios para la función adecuada de las enzimas que participan en la reparación del DNA, la desintoxicación o el mantenimiento de la metilación del genoma (Fenech *et al.*, 2021; Bonassi & Fenech, 2021). Luego, la suplementación con antioxidantes, las intervenciones dietéticas y el estilo de vida y otros factores epigenéticos, pueden contribuir a reducir, proteger o modificar favorablemente la estabilidad del genoma, incluso debería de ser una prioridad en salud pública, ya que la prevención es la mejor intervención. Incluso, se sabe que en algunos procesos, la frecuencia de células micronucleadas es modificable mediante diferentes estrategias como el uso de antioxidantes como se observó en pacientes con la enfermedad de Parkinson caracterizada por altos niveles de estrés oxidativo a los que se les suministró l-dopa y carbidopa, ambos con potente efecto antimicronucleogénico (Colamartino *et al.*, 2017), al igual que el caso de la suplementación de ácido fólico ( 516 microgramos/día) en mujeres en menopausia ( $p = 0,010$ ) (Titenko-Holland *et al.*, 1998), o de 5 mg/ 3 veces por día en pacientes con diabetes mellitus en quienes el daño genotóxico se reduce al 50 % (Gómez-Meda *et al.*, 2016; Zúñiga-González *et al.*, 2007; Müllner *et al.*, 2014), incluso si está bajo tratamiento de hemodiálisis (Stopper, *et al* 2008), también se observan efectos similares con el consumo de nuez de Brasil (*Bertholletia excelsa*) (Macan *et al.*, 2024). Este efecto también se determinó con el uso de estatinas (5-10 mg/día de rosuvastatina o 10-20 mg/día de atorvastatina) en personas con

dislipidemia (Donmez-Altuntas *et al.*, 2019). En el caso de pacientes con obesidad a quienes se les realizó cirugía bariátrica disminuyeron, además del peso, la frecuencia de linfocitos micronucleados con el beneficio adicional de la disminución de la frecuencia de apoptosis e incremento de índice mitótico (Bankoglu *et al.*, 2018). En el caso de pacientes infectados con *Schistosoma haematobium* y tratados con praziquantel (40 mg/kg/por peso corporal), se identificó que este fármaco disminuye 8 veces la frecuencia de células micronucleadas exfoliadas uroteliales (Anwar & Rosin, 1993). Por otro lado, el tratamiento de enfermedades mitocondriales con ubidecarenona, con el análogo de la coenzima Q10, disminuyó 50 % la frecuencia de linfocitos micronucleados (Migliore *et al.*, 2004), o en su caso el tratamiento de la enfermedad renal crónica con jugo de uva sin fermentar se observó que reduce el daño genómico (Corredor *et al.*, 2016); y la benfotiamina reduce el daño genómico en linfocitos periféricos de pacientes con hemodiálisis (Schupp *et al.*, 2008), o el uso de alfa-tocoferol en el tratamiento preventivo de leucoplasia oral (Benner *et al.*, 1994), o la reducción de micronúcleos en pacientes con liquen plano orales después de ser suplementados con betacaroteno (Buajeeb *et al.*, 2008).

En este contexto, es crucial resaltar que la detección temprana de individuos vulnerables constituye un elemento fundamental. Identificar a estos individuos no solo representa una oportunidad única para aplicar medicina preventiva, sino que también brinda la posibilidad de intervenir de manera proactiva en su salud. Las evidencias disponibles hasta el momento sugieren que es factible modificar las frecuencias de células micronucleadas mediante la utilización de diversos agentes. Este descubrimiento subraya la importancia de identificar a las personas susceptibles, al tiempo que abre la puerta a la implementación de intervenciones personalizadas y estratégicas que podrían mitigar o prevenir los efectos adversos. En última instancia, estos hallazgos no solo proporcionan una comprensión más profunda de los mecanismos subyacentes, sino que también permiten abordar de manera más efectiva los desafíos relacionados con la salud y el bienestar de la población en riesgo.

## Conclusiones

A pesar de la diversidad de factores que contribuyen a la variabilidad en la frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares como los factores genéticos, condición de salud, metabólicos, ambientales, estilo de vida, e incluso metodológicos como la obtención de datos; los métodos de colecta, procesamiento de muestra, número y criterios de células analizadas, entre muchos otros, la prueba de micronúcleos en tejido de mucosa oral es un efectivo biomarcador para detectar personas vulnerables a la genotoxicidad y citotoxicidad, e incluso con altas probabilidades de ser modificables favorablemente mediante medidas como suplementación de antioxidantes y el cambio a una vida más saludable.

## Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, redacción y supervisión del manuscrito, O.T.B.; redacción, revisión y edición del manuscrito, M.E.A.G.; escritura, preparación del manuscrito y búsqueda bibliográfica, R.S.M., A.J.G.B., P.E.R.E., M.L.R.I.

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

## Agradecimientos

A CONAHCYT - Programa Estancia posdoctoral por México 2023, Modalidad Académica (Registro: 19104). A las Universidades Autónoma de Guadalajara (UAG), y Autónoma de Baja California (UABC) por todas las facilidades y el apoyo recibido por estancia posdoctoral.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés

## Referencias

- Afshari, A.J., McGregor, P.W., Allen, J.W., & Fuscoe, J.C. (1994). Centromere analysis of micronuclei induced by 2-aminoanthraquinone in cultured mouse splenocytes using both a gamma-satellite DNA probe and anti-kinetochore antibody. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 24 (2), 96-102. <https://doi.org/10.1002/em.2850240204>
- Andreassi, M.G., Barale, R., Lozzo, P., & Picano, E. (2011). The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Mutagenesis*, 26 (1), 77-83. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq077>
- Anwar, W.A., & Rosin, M.P. (1993). Reduction in chromosomal damage in schistosomiasis patients after treatment with praziquantel. *Mutation Research*, 298 (3), 179-185. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(93\)90039-G](https://doi.org/10.1016/0165-1218(93)90039-G)
- Bankoglu, E.E., Arnold, C., Hering, I., Hankir, M., Seyfried, F., & Stopper, H (2018). Decreased chromosomal damage in lymphocytes of obese patients after bariatric surgery. *Scientific Reports*, 8 (1): 6–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29581-6>
- Benner, S.E., Wargovich, M.J., Lippman, S.M., Fisher, R., Velasco, M., Winn, R.J., & Hong, W.K. (1994). Reduction in oral mucosa micronuclei frequency following alpha-tocopherol treatment of oral leukoplakia. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 3 (1), 73-76. PMID: 8118389.
- Benvindo-Souza, M., Assis, R.A., Oliveira, E.A.S., Borges, R.E., & Santos, L.R.D.S. (2017). The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 27724-27730. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0727-2>
- Bolognisi & Fenech, M. (2019). Micronucleus cytome assays in human lymphocytes and buccal cells. *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*, 147-163. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9646-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9646-9_8).
- Bonassi, S., & Fenech, M. (2021). Roadmap for translating results from the micronucleus assay into clinical practice: From observational studies to randomized controlled trials. *Mutation Research*, 788, 108390. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108390>



- Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., Lando, C., Bolognesi, C., Burgaz, S., Holland, N., Kirsh-Volders, M., Knasmueller, S., Zeiger, E., Carnesoltas, D., Cavallo, D., da Silva, J., de Andrade, V.M., Demircigil, G.C., Domínguez-Odio, A., Donmez-Altuntas, H., Gattas, G., Giri, A., Giri, S., *et al.*, & Fenech, M (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*, 728 (3), 88-97. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.06.005>
- Borba, T.T., Molz, P., Schlickmann, D.S., Santos, C., Oliveira, C.F., Prá, D., Neto, L.K., & Franke, S.I.R. (2019) Periodontitis: Genomic instability implications and associated risk factors. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. Apr*;840:20-23. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.01.005>
- Buajeeb, W., Kraivaphan, P., Amornchat, C., & Suthamajariya, K. (2008). Reduction of micronuclei in oral lichen planus supplemented with beta-carotene. *Journal of oral science*, 50(4), 461-467. <https://doi.org/10.2334/josnusd.50.461>
- Castañeda-Yslas, I.J., Arellano-García, M.E., García-Zarate, M. A., Ruíz-Ruíz, B., Zavala-Cerna, M. G., & Torres-Bugarín, O. (2016). Biomonitoring with micronuclei test in buccal cells of female farmers and children exposed to pesticides of Maneadero Agricultural Valley, Baja California, México. *Journal of Toxicology*. 2016:2016:7934257. <https://doi.org/10.1155/2016/7934257>
- Chen, M., Linstra, R., & van Vugt, M.A. (2022). Genomic instability, inflammatory signaling and response to cancer immunotherapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1877 (1), 188661. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188661>
- Colamartino, M., Duranti, G., Ceci, R., Sabatini, S., Testa, A., & Cozzi, R. (2018). A multi-biomarker analysis of the antioxidant efficacy of Parkinson's disease therapy. *Toxicology, in vitro*, 47, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.10.020>
- Corredor, Z., Rodríguez-Ribera, L., Coll, E., Montañés, R., Diaz, J. M., Ballarin, J., Marcos, R., & Pastor, S. (2016). Unfermented grape juice reduce genomic damage on patients undergoing hemodialysis. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.03.016>
- Cuello-Almarales, D.A., Almaguer-Mederos, L.E., Vázquez-Mojena, Y., Almaguer-Gotay, D., Zayas-Feria, P., Laffita-Mesa, J.M., Cuello-Almarales, D.A., Almaguer-Mederos, L.E., Vázquez-Mojena, Y., Almaguer-Gotay, D., Zayas-Feria, P., Laffita-Mesa, J.M., González-Zaldívar, Y., Aguilera-Rodríguez, R., Rodríguez-Estupiñán, A., Velázquez-Pérez, L. & (2017). Buccal cell micronucleus frequency is significantly elevated in patients with spinocerebellar ataxia type 2. *Archives of Medical Research*, 48 (3), 297-302. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2017.06.008>
- Di Bona, M. & Bakhom, S.F. (2024). Micronuclei and Cancer. *Cancer Discovery*, 4 (2):214-226. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-23-1073>
- Diaz-Jacques, C.E., de Souza, H.M., Sperotto, N.D.M., Veríssimo, R.M., da Rosa, H.T., Moura, D.J., Saffi, J., Giugliani, R., & Vargas, C.R. (2018). Hunter syndrome: Long-term idursulfase treatment does not protect patients against DNA oxidation and cytogenetic damage. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 835:21-24. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.08.013>
- Donmez-Altuntas, H., Bayram, F., Coskun-Demirkalp, A.N., Baspınar, O., Kocer, D., & Toth, P.P. (2019). Therapeutic effects of statins on chromosomal DNA damage of dyslipidemic

- patients. *Experimental Biology and Medicine*, 244 (13), 1089-1095. <https://doi.org/10.1177/1535370219871895>
- Fenech, M. (2020). Cytokinesis-block micronucleus cytochrome assay evolution into a more comprehensive method to measure chromosomal instability. *Genes*, 11(10), 1203. <https://doi.org/10.3390/genes11101203>
- Fenech, M., & Neville, S. (1993). Effect of cooked meat on micronucleus frequency. *Food and Chemical Toxicology*, 31 (5), 337-342. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(93\)90188-5](https://doi.org/10.1016/0278-6915(93)90188-5)
- Fenech, M., Holland, N., Chang, W. P., Zeiger, E., & Bonassi, S. (1999). The HUMAN MicroNucleus Project—an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 428(1-2), 271-283. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(99\)00053-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(99)00053-8)
- Fenech, M., Holland, N., Zeiger, E., Chang, W.P., Burgaz, S., Thomas, P., Bolognesi, C., Knasmueller, S., Kirsch-Volders, M., & Bonassi, S. (2011). The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells—past, present and future. *Mutagenesis*, 26(1), 239-245. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq051>
- Fenech, M., Knasmueller, S., Bolognesi, C., Holland, N., Bonassi, S., & Kirsch-Volders, M. (2020). Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans. *Mutation Research Reviews*, 786:108342. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108342>
- Fenech, M., Knasmueller, S., Knudsen, L.E., Kirsch-Volders, M., Deo, P., Franzke, B., Stopper, H., Andreassi, M.G., Bolognesi, C., Dhillon, V.S., Laffon, B., Wagner, K.H., & Bonassi, S. (2021). “Micronuclei and Disease” special issue: Aims, scope, and synthesis of outcomes. *Mutation Research*, 788, 108384. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108384>
- Flores-García, A., Ruiz-Bernés, S., Aguiar-García, P., Benítez-Guerrero, V., Valle-Solís, M.O., Molina-Noyola, L.D., & Torres-Bugarín, O. (2018). Micronúcleos y anomalías nucleares en células de la mucosa bucal de mujeres mexicanas con factores de riesgo para cáncer cervicouterino: estudio piloto. *El Residente*, 13 (2), 56-61. <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2018/rr182c.pdf>
- Flores-García, A., Torres-Bugarín, O., Velarde-Félix, J.S., Rangel-Villalobos, H., Zepeda-Carrillo, E.A., Rodríguez-Trejo, A. & Nersesyan, A. (2014). Micronuclei and other nuclear anomalies in exfoliated buccal mucosa cells of Mexican women with breast cancer. *Journal of the Balkan Union of Oncology*, 19 (4), 895-9. <https://www.jbuon.com/archive/19-4-895.pdf>
- Gómez Cabrera A.S., González-Santiago A.E., Rodríguez-Mora J.F., Zúñiga-González G.M., Gómez-Meda B.C., Baptista Rosas R.C., Castañeda Arellano R., Roldan Mercado-Sesma A., Yareni Zúñiga L., & Sánchez-Parada M.G. (2024). Amelioration of cytogenotoxic damage in drug abusers supplemented with folic acid. *Biomedicines*, 12(2), 1-15. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12020352>
- Gómez-Meda, B.C., Zamora-Perez, A.L., Muñoz-Magallanes, T., Sánchez-Parada, M.G., Bañuelos, J.G., Guerrero-Velázquez, C., & Zúñiga-González, G.M. (2016). Nuclear abnormalities in buccal mucosa cells of patients with type I and II diabetes treated with folic acid. *Mutation Research*, 797, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.12.003>

- Gratia, M., Rodero, M. P., Conrad, C., Bou Samra, E., Maurin, M., Rice, G.I., Duffy, D., Revy, P., Petit, F., Dale, R.C., Crow, Y.J., Amor-Gueret, M., & Manel, N. (2019). Bloom syndrome protein restrains innate immune sensing of micronuclei by cGAS. *Journal of Experimental Medicine*, 216 (5), 1199-1213. <https://doi.org/10.1084/jem.20181329>
- Guan, L., & Tibshirani, R. (2022). Prediction and outlier detection in classification problems. *Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology*, 84(2), 524-546. <https://doi.org/10.1111/rssb.12443>
- Guo, X., Dai, X., Wu, X., Zhou, T., Ni, J., Xue, J., & Wang, X. (2020). Understanding the birth of rupture-prone and irreparable micronuclei. *Chromosoma*, 129, 181-200. <https://doi.org/10.1007/s00412-020-00741-w>
- Guo, X., Ni, J., Liang, Z., Xue, J., Fenech, M. F., & Wang, X. (2019). The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age-old problem. *Mutation Research*, 779, 1-35. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.11.001>
- Hintzsche, H., Hemmann, U., Poth, A., Utesch, D., Lott, J., & Stopper, H. (2017). Fate of micronuclei and micronucleated cells. *Mutation Research*, 771, 85-98. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.02.002>
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., & Fenech, M. (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/Reviews in Mutation Research*, 659 (1-2), 93-108. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.03.007>
- Hovhannisyan, G., Harutyunyan, T., & Aroutiounian, R. (2018). Micronuclei and what they can tell us in cytogenetic diagnostics. *Current Genetic Medicine Reports*, 6, 144-154. <https://doi.org/10.1007/s40142-018-0149-6>
- Jara-Ettinger, A.C., López-Tavera, J.C., Zavala-Cerna, M.G., & Torres-Bugarín, O. (2015). Genotoxic evaluation of Mexican welders occupationally exposed to welding-fumes using the micronucleus test on exfoliated oral mucosa cells: a cross-sectional, case-control study. *PLoS One*, 10(8), e0131548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131548>
- Karataylı, R., Zamani, A.G., Gezginç, K., Tuncez, E., Soysal, S., Karanfil, F., Soysal, S., Karanfil, F., Acar, A., & Yıldırım, M.S. (2017). Micronuclei frequencies in lymphocytes and cervical cells of women with polycystic ovarian syndrome. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*, 14(3), 151. <https://doi.org/10.4274%2Ftjod.10734>
- Kasamoto, S., Masumori, S., & Hayashi, M. (2013). *In vivo* micronucleus assay in mouse bone marrow and peripheral blood. *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*, 179-189. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-529-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-529-3_9)
- Kidd, D., Phillips, S., Chirom, T., Mason, N., Smith, R., Saul, J., Whitwell, J., & Clements, J. (2021). The 3D reconstructed skin micronucleus assay: considerations for optimal protocol design. *Mutagenesis*, 36 (1), 37-49. <https://doi.org/10.1093/mutage/gez037>
- Kirsch-Volders, M., Bolognesi, C., Ceppi, M., Bruzzone, M., & Fenech, M. (2020). Micronuclei, inflammation and auto-immune disease. *Mutation Research*, 786, 108335. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108335>
- Krupina, K., Goginashvili, A., & Cleveland, D.W. (2021). Causes and consequences of micronuclei. *Current opinion in cell biology*, 70, 91-99. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2021.01.004>

- Levine, M.S., & Holland, A.J. (2018). The impact of mitotic errors on cell proliferation and tumorigenesis. *Genes & development*, 32(9-10), 620-638. <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.314351.118>
- Li, S., & Wu, X. (2020). Common fragile sites: protection and repair. *Cell & Bioscience*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00392-5>
- López-Gil, L., Pascual-Ahuir, A., & Proft, M. (2023). Genomic instability and epigenetic changes during aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (18), 14279. <https://doi.org/10.3390/ijms241814279>
- Maass, K.K., Rosing, F., Ronchi, P., Willmund, K. V., Devens, F., Hergt, M., Herrmann, H., Lichter, P., & Ernst, A. (2018). Altered nuclear envelope structure and proteasome function of micronuclei. *Experimental Cell Research*, 371 (2), 353-363. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.08.029>
- Macan, T.P., Magenis, M.L., Damiani, A.P., de Oliveira Monteiro, I., Silveira, G.D.B., Zaccaron, R., Silveira, P.C.L., Teixeira, J.P.F., Gajski, G., & Andrade, V.M. (2024). Brazil nut consumption reduces DNA damage in overweight type 2 diabetes mellitus patients. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2024 Apr:895:50373. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2024.503739>
- Migliore, L., Cocchi, L., & Scarpato, R. (1996). Detection of the centromere in micronuclei by fluorescence in situ hybridization: its application to the human lymphocyte micronucleus assay after treatment with four suspected aneugens. *Mutagenesis*, 11 (3), 285-290. <https://doi.org/10.1093/mutage/11.3.285>
- Migliore, L., Coppede, F., Fenech, M., & Thomas, P. (2011). Association of micronucleus frequency with neurodegenerative diseases. *Mutagenesis*, 26 (1), 85-92. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq067>
- Migliore, L., Molinu, S., Naccarati, A., Mancuso, M., Rocchi, A., & Siciliano, G. (2004). Evaluation of cytogenetic and DNA damage in mitochondrial disease patients: effects of coenzyme Q10 therapy. *Mutagenesis*, 19 (1), 43-49. <https://doi.org/10.1093/mutage/geg036>
- Mihaljevic, O., Zivancevic-Simonovic, S., Milosevic-Djordjevic, O., Djurdjevic, P., Jovanovic, D., Todorovic, Z., Grujicic, D., Radovic-Jakovljevic, M., Tubic, J., Markovic, A., Paunovic, M., Stanojevic-Pirkovic, M., & Markovic, S. (2018). Apoptosis and genome instability in children with autoimmune diseases. *Mutagenesis*, 33 (5-6), 351-357. <https://doi.org/10.1093/mutage/gey037>
- Mohr, L., Toufektchan, E., von Morgen, P., Chu, K., Kapoor, A., & Maciejowski, J. (2021). ER-directed TREX1 limits cGAS activation at micronuclei. *Mol Cell*. 18;81(4):724-738.e9. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.12.037>
- Molina-Noyola, L., Coronado-Romo, M., Vázquez-Alcaraz, S., Izaguirre-Perez, M., Arellano-García, E., & Flores-García, A. (2019). Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity amongst dental surgeons and technicians by micronucleus assay. *Dental, Oral and Craniofacial Research*. 5: 1-5. <https://doi.org/10.15761/docr.1000296>
- Moore, F.R., Urda, G.A., Krishna, G., & Theiss, J.C. (1995). An *in vivo* *in vitro* method for assessing micronucleus and chromosome aberration induction in rat bone marrow and spleen 1. Studies with cyclophosphamide. *Mutation Research*, 335 (2), 191-199. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(95\)90055-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(95)90055-1)

- Morita, T., MacGregor, J.T., & Hayashi, M. (2011). Micronucleus assays in rodent tissues other than bone marrow. *Mutagenesis*, 26 (1), 223-230. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq066>
- Müllner, E., Brath, H., Nersesyan, A., Nitz, M., Petschnig, A., Wallner, M., Knasmüller, S., & Wagner, K.H. (2014). Nuclear anomalies in exfoliated buccal cells in healthy and diabetic individuals and the impact of a dietary intervention. *Mutagenesis*, 29 (1), 1-6. <https://doi.org/10.1093/mutage/get056>
- Naga, M.B.S.S., Gour, S., Nallagutta, N., Ealla, K.K.R., Velidandla, S., & Manikya, S. (2016). Buccal micronucleus cytochrome assay in sickle cell disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10 (6), ZC62. <https://doi.org/10.7860%2FJCDR%2F2016%2F19984.7998>
- 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. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0248>
- Nersesyan, A.K. (2005). Nuclear buds in exfoliated human cells. *Mutation Research*, 588 (1), 64-68. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.06.010>
- OECD. (2016), *Test No. 474: Mammalian erythrocyte micronucleus test*, OECD guidelines for the testing of chemicals, section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264762-en>
- Ohyama, W. (2019). Markedly enhanced micronucleus induction by 1, 2-dimethylhydrazine dihydrochloride in colonic cells of rats with bacterial colonization in the intestine. *Mutation Research*, 838, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.11.007>
- Pastor, S., Rodríguez-Ribera, L., Corredor, Z., da Silva Filho, M.I., Hemminki, K., Coll, E., Försti, A., & Marcos, R. (2018). Levels of DNA damage (Micronuclei) in patients suffering from chronic kidney disease. Role of GST polymorphisms. *Mutation*, 836(Pt A):41-46. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.05.008>
- Petrozzi, L., Lucetti, C., Scarpato, R., Gambaccini, G., Trippi, F., Bernardini, S., Del Dotto, P., Migliore, L., & Bonuccelli, U. (2002). Cytogenetic alterations in lymphocytes of Alzheimer's disease and Parkinson's disease patients. *Neurological Sciences*, 23, s97-s98. <https://doi.org/10.1007/s100720200087>
- Ramos-Ibarra, M., Villa-Castellanos, J., Barba-León, J., Flores-Valdez, M., Zavala-Aguirre, L., & Torres Bugarín, O. (2020). Estudio exploratorio de la genotoxicidad de vacunas recombinantes para tuberculosis bovina. *Abanico Veterinario*, 10. <https://doi.org/10.21929/abavet2020.8>
- Ramos-Remus, C., Dorazco-Barragan, G., Aceves-Avila, F. J., Alcaraz-Lopez, F., Fuentes-Ramirez, F., Michel-Diaz, J., Torres-Bugarín, O., Ventura-Aguilar, A., & Zuñiga-González, G. (2002). Genotoxicity assessment using micronuclei assay in rheumatoid arthritis patients. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 20 (2), 208-212. PMID: 12051400
- Rodríguez-Vázquez, M., Sánchez Ortiz, A., Ramos Remus, C., Zúñiga, G., & Torres Bugarín, O. (2000). Evaluación de la genotoxicidad de ciclofosfamida mediante prueba de micronúcleos en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Revista Mexicana de Reumatología*, 15(2): 41-45. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-292257>
- Sauer, J.M., Porter, A.C., & Biomarker Programs, Predictive Safety Testing Consortium. (2018). Preclinical biomarker qualification. *Experimental Biology and Medicine*, 243(3), 222-227. <https://doi.org/10.1177/1535370217743949>

- Schmid W. The micronucleus test. (1975). *Mutation Research*, 31(1):9-15. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
- Schupp, N., Dette, E.M., Schmid, U., Bahner, U., Winkler, M., Heidland, A., & Stopper, H. (2008). Benfotiamine reduces genomic damage in peripheral lymphocytes of hemodialysis patients. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 378, 283-291. <https://doi.org/10.1007/s00210-008-0310-y>
- Shimizu, N. (2011). Molecular mechanisms of the origin of micronuclei from extrachromosomal elements. *Mutagenesis*, 26 (1), 119-123. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq053>
- Shimizu, N., Shimura, T., & Tanaka, T. (2000). Selective elimination of acentric double minutes from cancer cells through the extrusion of micronuclei. *Mutation Research*, 448 (1):81-90. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00003-8](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00003-8)
- Shindo, Y., Hirano, F., Maeda, H., & Takeda, U. (1983). The micronucleus test with mouse spleen cells. *Mutation Research*, 121 (1), 53-57. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(83\)90086-6](https://doi.org/10.1016/0165-7992(83)90086-6)
- Siri, S.O., Martino, J., & Gottifredi, V. (2021). Structural chromosome instability: types, origins, consequences, and therapeutic opportunities. *Cancers*, 13(12), 3056. <https://doi.org/10.3390/cancers13123056>
- Sommer, S., Buraczewska, I., & Kruszewski, M. (2020). Micronucleus assay: The state of art, and future directions. *International journal of molecular sciences*, 21 (4), 1534. <https://doi.org/10.3390/ijms21041534>
- Squier, C.A., & Kremer, M.J. (2001). Biology of oral mucosa and esophagus. *JNCI Monographs*. 29):7-15. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003443>
- Stich, H.F., Stich, W., & Parida, B.B. (1982). Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals at high risk for oral cancer: betel quid chewers. *Cancer Letters*, 17 (2), 125-134. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(82\)90024-6](https://doi.org/10.1016/0304-3835(82)90024-6)
- Stopper, H., Treutlein, A.T., Bahner, U., Schupp, N., Schmid, U., Brink, A., Perna, A., & Heidland, A. (2008). Reduction of the genomic damage level in haemodialysis patients by folic acid and vitamin B12 supplementation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23 (10), 3272-3279. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn254>
- Strimbu, K., & Tavel, J.A. (2010). What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5 (6), 463. <https://doi.org/10.1097%2FCOH.0b013e32833ed177>
- Tadin, A., Gavic, L., Roguljic, M., Jerkovic, D., & Zeljezic, D. (2019). Nuclear morphological changes in gingival epithelial cells of patients with periodontitis. *Clinical Oral Investigations*, 23, 3749-3757. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02803-5>
- Terradas, M., Martín, M., & Genescà, A. (2016). Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis. *Archives of toxicology*, 90, 2657-2667. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1818-4>
- Terradas, M., Martín, M., Tusell, L., & Genescà, A. (2010). Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell? *Mutation Research*, 705 (1), 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.03.004>
- Thomas, P., & Fenech, M. (2015). Buccal cytome biomarkers and their association with plasma folate, vitamin B12 and homocysteine in Alzheimer's disease. *Lifestyle Genomics*, 8 (2), 57-69. <https://doi.org/10.1159/000435784>
- Tibshirani, R., & Hastie, T. (2007). Outlier sums for differential gene expression analysis. *Biostatistics*, 8(1), 2-8. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxl005>

- Titenko-Holland, N., Jacob, R.A., Shang, N., Balaraman, A., & Smith, M.T. (1998). Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mutation Research*, 417(2-3), 101-114. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00104-1](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00104-1)
- 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. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116159>
- 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 de Doctorado en Genética Humana]. Universidad de Guadalajara, <http://hdl.handle.net/20.500.12104/20824>
- Torres-Bugarín, O., & Arias-Ruiz, L.F. (2023). Micronúcleos: Actualización del papel en la inestabilidad genética, inflamación, envejecimiento y cáncer. Revisión panorámica. *Revista Biomédica*, 34 (2), 208-223. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v34i2.1101>
- Torres-Bugarín, O., & Ramos Ibarra, M.L. (2013a). Micronúcleos y anomalías nucleares en mucosa bucal para evaluar población en riesgo laboral por mutágenos. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 22 (1), 01-0. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v22n1/art01v22n1.pdf>
- Torres-Bugarín, O., & Ramos-Ibarra, M.L. (2013b). Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *International Journal of Morphology*, 31(2), 650-657. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022013000200050>
- Torres-Bugarín, O., Covarrubias-Bugarín, R., Zamora-Perez, A.L., Torres-Mendoza, B., García-Ulloa, M., & Martínez-Sandoval, F. (2007). Anabolic-androgenic steroids induce micronuclei in buccal mucosa cells of body builders. *British Journal of Sports Medicine*, 1(9):592-596. <https://doi.org/10.1136/bjism.2006.032474>
- Torres-Bugarín, O., De Anda-Casillas, A., Ramírez-Muñoz, M.P., Sánchez-Corona, J., Cantú, J.M., & Zúñiga, G. (1998). Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. *Mutation Research*, 413 (3), 277-281. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00021-7](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00021-7)
- Torres-Bugarín, O., Fernández-García, A., Torres-Mendoza, B.M., Zavala-Aguirre, J.L., Nava-Zavala, A., & Zamora-Perez, A.L. (2009). Genetic profile of overweight and obese school-age children. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 91 (4), 789-795. <https://doi.org/10.1080/02772240802404966>
- Torres-Bugarín, O., Macriz Romero, N., Ramos Ibarra, M.L., Flores-García, A., Valdez Aburto, P., & Zavala-Cerna, M.G. (2015). Genotoxic effect in autoimmune diseases evaluated by the micronucleus test assay: our experience and literature review. *Biomed Research International*. 2015;2015:194031. <https://doi.org/10.1155/2015/194031>
- Torres-Bugarín, O., Pacheco-Gutiérrez, A.G., Vázquez-Valls, E., Ramos-Ibarra, M.L., Torres-Mendoza, B.M. (2014b) Micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa cells in patients with anorexia and bulimia nervosa. *Mutagenesis*. 29(6):427-31. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu044>.
- Torres-Bugarín, O., Ramos-Ibarra, M.L., Carrillo-Gómez, C.S., & Zavala-Aguirre, J.L. (2016). Micronúcleos y otras anomalías nucleares en células de mucosa bucal como biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad en personal expuesto a gases anestésicos.

- Revista Colombiana de Salud Ocupacional*, 6 (1), 3-9. <https://doi.org/10.18041/2322-634X/rcso.1.2016.4877>
- Torres-Bugarín, O., Ramos-Ibarra, M.L., Morgan-Villela, G., Zúñiga-González, G. (2013c). Genotoxicidad de la quimioterapia antineoplásica evaluada por medio de la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células de mucosa bucal. *IX Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia*. Instituto de Investigaciones en Óptica. S5-MCS34. ISBN 978-607-95228-4-1.
- Torres-Bugarín, O., Ventura-Aguilar, A., Zamora-Perez, A., Gómez-Meda, B.C., Ramos-Ibarra, M.L., Morgan-Villela, G., Gutiérrez-Franco, A., & Zúñiga-González, G. (2003). Evaluation of cisplatin+ 5-FU, carboplatin+ 5-FU, and ifosfamide+ epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. *Mutation Research* 539(1-2), 177-186. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(03\)00163-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(03)00163-3)
- Torres-Bugarín, O., Zavala-Cerna, M.G., Nava, A., Flores-García, A., & Ramos-Ibarra, M.L. (2014a). Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Disease Markers* 2014;2014:956835. <https://doi.org/10.1155/2014/956835>
- Umbreit, N.T., Zhang, C.Z., Lynch, L.D., Blaine, L.J., Cheng, A.M., Tourdot, R., Sun, L., Almubarak, H.F., Judge, K., Mitchell, T.J., Spektor, A., & Pellman, D. (2020). Mechanisms generating cancer genome complexity from a single cell division error. *Science*, 368(6488), eaba0712. <https://doi.org/10.1126/science.aba0712>
- Uno, Y., Morita, T., Luijten, M., Beevers, C., Hamada, S., Itoh, S., Ohyama, W., & Takasawa, H. (2015). Recommended protocols for the liver micronucleus test: report of the IWGT working group. *Mutation Research*, 783, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.10.010>
- Vizcarra, S. (2005). Micronúcleos y otras anormalidades nucleares en células epiteliales, de niños con normopeso, bajo peso y desnutrición. Tesis de Maestría en Nutrición Clínica. Universidad del Valle de Atemajac
- Wu, X.Y., & Lu, L. (2012). Vitamin B6 deficiency, genome instability and cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13 (11): 5333-5338. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.11.5333>
- Xi, W.S., Li, J. B., Liu, Y.Y., Wu, H., Cao, A., & Wang, H. (2021). Cytotoxicity and genotoxicity of low-dose vanadium dioxide nanoparticles to lung cells following long-term exposure. *Toxicology*, 459, 152859. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152859>
- Yasui, M., Koyama, N., Koizumi, T., Senda-Murata, K., Takashima, Y., Hayashi, M., & Honma, M. (2010). Live cell imaging of micronucleus formation and development. *Mutation Research*, 692 (1-2), 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.07.009>
- Zhang, C.Z., Spektor, A., Cornils, H., Francis, J.M., Jackson, E.K., Liu, S., Meyerson, M., & Pellman, D. (2015). Chromothripsis from DNA damage in micronuclei. *Nature*, 522 (7555), 179-184. <https://doi.org/10.1038/nature14493>
- Zúñiga-González, G.M., Batista-González, C.M., Gómez-Meda, B.C., Ramos-Ibarra, M. L., Zamora-Perez, A.L., Muñoz-Magallanes, T., Ramos-Valdés, C., & Gallegos-Arreola, M.P. (2007). Micronuclei in diabetes: folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. *Mutation Research*, 634 (1-2), 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.06.006>