

**Artigo de revisão**Vivian Pereira Furtado<sup>1</sup>, Mauro Vinicius Dutra Girão<sup>1</sup>**Malformações dentárias causadas por teratógenos: revisão sistemática****Dental malformations caused by terathogens: systematic review****ABSTRACT**

Odontogenesis is teeth development process. During this process congenital malformations caused by environmental teratogens can occur. Many substances have teratogenic potential. However, there is little evidence to prove their correlation with congenital malformations in humans. The aim of this article is to present the results of a literature review that was carried out on dental alterations caused by teratogens. The research was conducted on five different databases: 1) the Virtual Health Library (VHL), 2) VHL Dentistry, 3) PubMed, 4) Academic Google and 5) Scielo. The descriptors used were: teratology, odontogenesis, teratogens, dentition, as well as their combinations in Portuguese and English, which added up to 179 articles. After applying the selection criteria, the study sample consisted of three articles. The selected articles used rats and mice as experimental models and were published between 2002 and 2015. One of the studies verified the teratogenic effect of aspirin (acetylsalicylic acid) and the other two, the teratogenic effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). The results demonstrated that aspirin consumption during pregnancy can reduce the microhardness of dental tissues in young rats. Regarding TCDD, the results showed it can promote changes in the morphology or agenesis of mice molars. The different organic responses to TCDD suggest the existence of a genetic component mediating the effects on molar development. It is suggested that the aryl-hydrocarbon receptor as well as the nuclear translocator protein pathways are related to the teratogenicity of TCDD. Thus, the relationship between environmental teratogens and congenital malformations in odontogenesis has been evidenced. Nevertheless, further studies on the subject are needed. No studies on humans were found.

**RESUMO**

A odontogênese é o processo de desenvolvimento dos dentes, no qual podem ocorrer malformações congênitas causadas por teratógenos ambientais. Muitas substâncias possuem potencial teratogênico, entretanto há poucas evidências que comprovem sua relação com malformações congênitas em humanos. Objetivou-se realizar um levantamento bibliográfico sobre as alterações dentárias causadas por teratógenos. A pesquisa foi realizada nas bases de dados Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), BVS Odontologia, PubMed, Google Acadêmico e Scielo. Os descritores usados foram: teratologia, odontogênese, teratógenos, dentição e suas combinações em português e inglês, totalizando 179 artigos. Após aplicação dos critérios de seleção, a amostra do estudo foi composta por três artigos. Os estudos incluídos utilizaram ratos e camundongos como modelos experimentais e foram publicados entre os anos de 2002 e 2015. Um estudo verificava o efeito teratogênico da aspirina (ácido acetilsalicílico) e dois, de 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD). Os resultados mostram que o consumo de aspirina durante a gestação pode reduzir a microdureza dos tecidos dentais de ratos jovens. O TCDD, por sua vez, pode promover alterações na morfologia ou agenesia de molares de camundongos. As diferentes respostas orgânicas ao TCDD sugerem a existência de um componente genético mediando os efeitos sobre o desenvolvimento molar. Sugere-se que as vias do receptor aril hidrocarboneto e da proteína translocadora nuclear estejam relacionadas com a teratogenicidade do TCDD. Desse modo, vem sendo evidenciada a relação entre teratógenos ambientais e malformações congênitas na odontogênese, mas são necessários mais estudos sobre o tema. Não foram encontrados estudos em seres humanos.

1. Centro Universitário Inta (UNINTA)

**KEYWORDS**

Dentition, Odontogenesis, Teratogens, Teratology

**PALAVRAS-CHAVE**

Dentição, Odontogênese, Teratógenos, Teratologia

**AUTOR CORRESPONDENTE:**

Mauro Vinicius Dutra Girão

[viniciusgirao@gmail.com](mailto:viniciusgirao@gmail.com)

Biólogo, Especialista em Gestão de Saúde Pública e Meio Ambiente e Mestre em Engenharia de Pesca. Atualmente realiza consultorias ambientais e é docente do Centro de Ciências da Saúde do Centro Universitário INTA - UNINTA.

Submetido em: 08/01/2022

Aceito em: 15/08/2022

## INTRODUÇÃO

Os dentes são órgãos calcificados formados em grande parte por cálcio, fósforo e magnésio. Estão implantados nos alvéolos e protegidos pela gengiva em ambas as arcadas. Desempenham diversas funções, como mastigatória, fonética e estética (PINHEIRO et al., 2020).

O desenvolvimento embrionário do sistema estomatognático humano acontece a partir do primeiro mês de gestação, tendo a odontogênese como uma de suas etapas. Trata-se do complexo processo de desenvolvimento dos dentes, a partir de células embrionárias, que crescem e irrompem na cavidade oral. Conhecer os processos envolvidos na odontogênese permite um melhor diagnóstico das alterações das estruturas do sistema estomatognático (SILVA et al., 2019; PINHEIRO et al., 2020).

Drogas, medicamentos, substâncias químicas e exposições ocupacionais e ambientais são embriotóxicos, ou seja, produzem defeitos congênitos. As substâncias capazes de promover ou aumentar as chances de defeitos congênitos são chamadas de agentes teratogênicos (SILVA, RAMÍREZ, ARENCIBIA, 2018).

Os defeitos congênitos dentários são frequentes e podem se apresentar como alterações (de número, forma ou posição do dente), as quais comprometem a espessura e a qualidade dos tecidos dentários, influenciando negativamente na funcionalidade e aumentando incidência de lesões cáries (CAMPOS et al., 2015).

Diante do exposto, o presente artigo objetivou realizar uma revisão sistemática a fim de caracterizar as produções científicas que abordam os efeitos dos teratogênicos sobre a odontogênese, apresentando as alterações clínicas decorrentes da exposição.

## DESENVOLVIMENTO

Trata-se de um estudo de revisão sistemática da literatura adotando as etapas do método Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA), organizadas utilizando-se a estratégia PICO, um acrônimo para População, Intervenção, Controle e "Outcomes" (desfecho).

Desse modo, a análise de dados seguiu as seguintes etapas: 1) Identificação do tema e da pergunta norteadora; 2) Definição das palavras-chave; 3) Busca ou amostragem da literatura; 4) Coleta de dados; 5) Análise crítica dos estudos incluídos; 6) Definição das informações a serem extraídas; 7) Discussão dos resultados com estudos pré-existentes; 8) Apresentação da revisão de literatura.

A pergunta científica que conduziu esta revisão foi: Como a exposição de gestantes (população) aos teratogênicos (intervenção) pode influenciar no desenvolvimento dos dentes (desfecho) de crianças (população) se comparados a grupos controle (controle)?

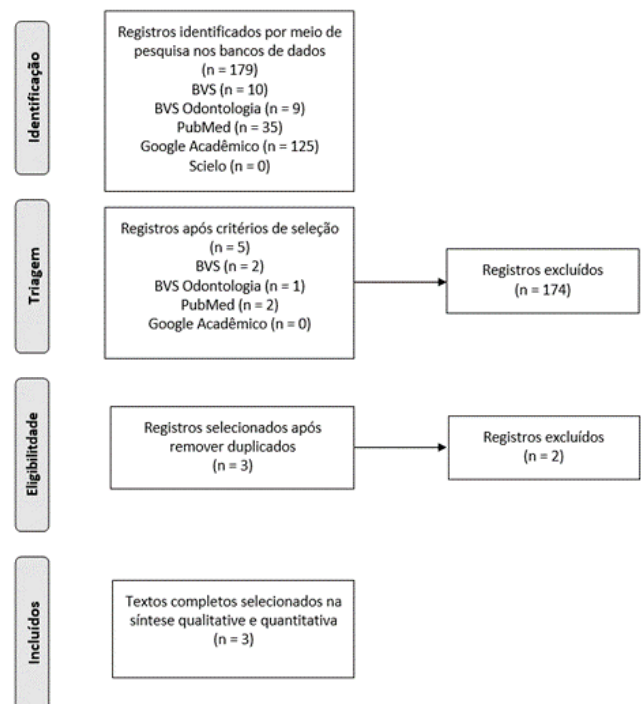
As palavras-chave foram os descritores controlados recuperados na plataforma Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), sendo quatro descritores: teratologia, odontogênese, teratogênicos e dentição. A busca foi realizada a partir de suas combinações em português e inglês nas bases de dados Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), BVS Odontologia, PubMed, Google Acadêmico e Scielo.

A coleta de dados ocorreu durante o mês de julho de 2021. Não foram utilizados filtros na seleção inicial dos artigos com a finalidade de identificar a produção científica total sobre o tema. Em seguida, foram utilizados como filtros de busca os artigos completos com possibilidade de acesso gratuito. Foram excluídos os artigos de revisão e literatura cinzenta.

Seguiu-se a avaliação crítica por meio da leitura prévia dos títulos e dos resumos, com posterior leitura e análise criteriosa dos artigos na íntegra por dois pesquisadores independentes (que entraram no consenso quanto à inclusão dos artigos), discussão das divergências e definição das informações a serem extraídas para a elaboração da revisão ao longo do mês de agosto de 2021.

Inicialmente, foram identificados 179 artigos. Entretanto, após aplicação dos critérios de seleção, a amostra do estudo foi reduzida a três artigos, os quais foram apresentados por meio de quadros sinópticos e seus conteúdos discutidos com estudos pertinentes. Como preceito ético, os autores de todos os trabalhos incluídos foram citados.

As etapas de seleção dos artigos para revisão encontram-se apresentadas no fluxograma a seguir (Figura 1).



**Figura 1-** Fluxograma de seleção dos artigos da revisão sistemática sobre os efeitos dos teratogênicos na odontogênese

Todos os estudos incluídos utilizaram modelos experimentais para evidenciar a influência de teratogênicos na odontogênese (Figura 2).

O uso de modelos animais em pesquisas científicas na área biomédica ocorre a séculos, permitindo a obtenção de conhecimentos benéficos para a saúde humana. Atualmente, para a realização de pesquisas com modelos experimentais, deve ser dada atenção ao bem-estar animal, respeitando os preceitos éticos que guiam as pesquisas com animais (MAGALHÃES, 2012; COSTA NETO et al., 2018; QUEIROZ NETA et al., 2019).

<b>Bases de Dados</b>	<b>Autor/ano.</b>	<b>Título</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Conclusões</b>
Pubmed	Sahlberg et al, 2002.	A expressão dos mediadores de toxicidade de dioxina, do receptor de hidrocarboneto de arila (AHR) e do translocador nuclear AHR (ARNT), é regulada pelo desenvolvimento nos dentes de camundongo	Estudar a relação dos receptores de hidrocarboneto de arila (AHR), juntamente com a proteína translocadora nuclear AHR (ARNT), na mediação dos efeitos tóxicos das dioxinas.	A expressão do receptor de hidrocarboneto de arila (AHR) e da proteína translocadora nuclear AHR (ARNT) durante o desenvolvimento inicial e a mineralização dos dentes sugere que essa via esteja relacionada com a teratogenicidade do 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD).
BVS e Pubmed	Keller et al, 2007.	Os efeitos qualitativos da dioxina em molares variam entre camundongos consanguíneos.	Avaliar os efeitos de diferentes concentrações do 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) no desenvolvimento molar em diferentes cepas de camundongos consanguíneos. Para isso, utilizaram seis cepas de camundongos consanguíneos (C57BL / 6J, BALB / cByJ,	O teratígeno 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) pode promover alterações na morfologia ou agenesia de molares de camundongos consanguíneos. As diferentes respostas orgânicas ao TCDD sugerem a existência de um componente genético mediando os

			A / J, CBA / J, C3H / HeJ e C57BL / 10J).	efeitos sobre o desenvolvimento molar.
BVS e BVS Odontologia	Nazir et al, 2015.	Microdureza de tecidos dentais influenciada pela administração de aspirina durante a gravidez.	Avaliar o efeito da aspirina (ácido acetilsalicílico) na microdureza dos tecidos mineralizados dos dentes da prole de coelhas em resposta à ingestão de aspirina durante a gravidez.	A administração de aspirina pode reduzir a microdureza dos tecidos dentais de ratos jovens, aumentando a possibilidade de causar o desenvolvimento de anomalias em bebês de mulheres usuárias.

**Figure 2-** Quadro sinóptico com as informações dos artigos sobre os efeitos dos teratógenos na odontogênese incluídos na revisão

O primeiro estudo incluído na revisão é o de Sahlber et al. (2002). Os autores realizaram experimentos com camundongos da cepa NMRI, sendo analisadas as mandíbulas de embriões de camundongos com 12 dias de gestação à 12 dias pós-natais. Os tecidos das mandíbulas passaram por processamento histológico. Um cDNA de camundongo foi transcrito utilizando primers aleatórios para sintetizar um fragmento correspondente aos exons 2-7 do gene AHR. As seções mandibulares foram desparafinizadas, pré-tratadas com proteinases e hibridizadas, sendo utilizados anticorpos policlonais para a realização de análises de imunohistoquímica.

O receptor de hidrocarboneto de arila (AhR) é um regulador no metabolismo de drogas e desempenha funções endógenas, como o controle do ciclo celular, da resposta imune e da diferenciação celular. Também é um importante mediador da toxicidade de determinados xenobióticos, como as dioxinas (STEJSKALOVA et al, 2011).

Os autores obtiveram como resultados que os dentes de rato em desenvolvimento expressam tanto AHR quanto ARNT, além de que seus padrões de expressão estão relacionados ao estágio de desenvolvimento do dente. A expressão de AHR e ARNT foi detectada no epitélio dos germes dentários iniciais, mas não durante a morfogênese do botão ao estágio de sino. As proteínas foram intensamente expressas em odontoblastos secretores e ameloblastos, bem como em células osteogênicas e epitélio oral.

A expressão conjunta dos genes AHR e ARNT em odontoblastos e ameloblastos sugere que a toxicidade dentária de TCDD na deposição de matriz e mineralização pode ocorrer através da via AHR-ARNT, embora esses achados ainda devam ser verificados em estudos experimentais.

Os autores afirmam que a formação dos tecidos duros dos dentes é um processo sequencial de eventos altamente controlados, incluindo a secreção da matriz extracelular, o processamento e degradação das proteínas da matriz, seguida da deposição mineral e, no caso do esmalte, da maturação. Perturbar qualquer um desses mecanismos pode levar à formação, à degradação e à mineralização da matriz defeituosa. Também enfatizam que a dependência da sensibilidade do TCDD difere entre os dentes.

Processos industriais geram substâncias contaminantes que podem se tornar poluentes prejudiciais à saúde, como as dioxinas. O 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) é considerado a dioxina com maior índice de toxicidade, promovendo efeitos nocivos no sistema imunológico, endócrino, reprodutivo e de desenvolvimento. Os efeitos tóxicos das dioxinas são mediados pelo receptor de aril-hidrocarboneto (AhR), o qual atua como mediador da adaptação metabólica celular a essas substâncias, possuindo uma forte afinidade com o TCDD (PATRIZI et al, 2018).

Defeitos na odontogênese do esmalte comprometem a estrutura tecidual em ambas as dentições, e podem estar relacionados a fatores genéticos maternos ou do embrião. A severidade varia, indo desde a maior facilidade para o desgaste à problemas estéticos funcionais que podem comprometer a saúde e a qualidade de vida da criança. É importante que o cirurgião-dentista tenha domínio clínico sobre as diversas formas de displasia (SALAS et al, 2016; SANTOS et al., 2019).

O segundo estudo incluído na revisão é o de Keller, Huet-Hudson e Leamy (2007). Nesse estudo, camundongas grávidas foram expostas a quatro concentrações diferentes de TCDD (0,01, 0,1 e 1,0  $\mu\text{g} / \text{kg}$ ) no 13º dia de gestação. A administração foi feita por gavagem oral. As três soluções de tratamento com TCDD foram derivadas de uma solução estoque inicial de TCDD diluído em série com óleo de milho para produzir misturas com concentrações finais que permitissem que todos os grupos recebessem gavagem em volumes semelhantes (aproximadamente 6–11  $\mu\text{l}$ ). O grupo controle recebeu igual volume de óleo de milho, sem TCDD.

Posteriormente, a frequência de ausência de terceiros molares (M3s) e de alterações na morfologia da cúspide do primeiro molar inferior (M1) foram analisadas nos seus descendentes. Para isso, os descendentes das fêmeas de cada linhagem e do grupo de tratamento foram desmamados e separados por sexo aos 28 dias de idade, sacrificados aos 70 dias de idade e, depois, esqueletizados. Cada camundongo foi examinado quanto à presença ou ausência dos terceiros molares (M3) superiores e inferiores de ambos os lados. Além disso, foram verificadas variações na morfologia do primeiro molar (M1) mandibular.

Os resultados evidenciaram que três das seis cepas apresentavam ausência do M3 em um ou ambos os lados, e a frequência de ausência aumentava com o aumento da concentração do TCDD. A maior frequência de alterações morfológicas no M1 foi evidenciada nos animais dos grupos experimentais, ocorrendo a ausência dos molares com maior frequência em descendentes cujas mães foram submetidas à dosagem mais alta (1  $\mu\text{g} / \text{kg}$ ) de TCDD.

Portanto, os efeitos do TCDD sobre os M1 e M3 sofre influência genética, exibindo considerável heterogeneidade na proporção de terceiros molares presentes ou ausentes, no entanto as doses pré-natais de TCDD parecem influenciar na ausência e morfologia dos dentes molares.

A exposição materna a teratogênicos biológicos, físicos e químicos durante o desenvolvimento orofacial dos descendentes pode promover alterações estruturais e funcionais no sistema estomatognático fetal (SILVA et al., 2019).

Os dentes constituem um importante objeto de estudo para a compreensão da evolução e das alterações genótipo-fenótipo. Entre as alterações na morfologia dos dentes estão o número e a distribuição de cúspides na coroa dos dentes molares. A relação entre as vias de sinalização e a forma dos dentes molares, entretanto, ainda não é bem esclarecida. Outra alteração observada em dentes molares é a hipomineralização, um defeito morfofuncional que ocorre na fase de maturação do esmalte dentário (MORITA et al, 2020; BASSETTI et al, 2020).

O terceiro e último estudo incluído na revisão é o de Nazir, Ali e Zaidi (2015). Os autores realizaram um estudo de controle utilizando quatorze coelhas adultas, pesando entre 1,5 a 2,0 kg cada, as quais foram separadas em dois grupos, um tratado e o outro de controle, com sete coelhas em cada.

O grupo experimental foi tratado com aspirina. A solução foi preparada com um comprimido de ácido acetilsalicílico dissolvido em 25 ml de água destilada. Depois, um ml (8 mg / kg) dessa preparação foi administrado por via oral, duas vezes por dia, durante uma semana. A dose do medicamento foi calculada de acordo com o peso corporal

do animal, com base na regra de Clark: Dose = dose de adulto x (Peso Kg / 70).

Os sete descendentes de cada grupo foram sacrificados aos três meses de idade. As mandíbulas foram limpas e verificadas quanto à erupção e condição dos dentes. As maxilas e mandíbulas foram seccionadas e os dentes, extraídos. Em seguida, lavados com água deionizada, conservados em formol a 10% e categorizados com números de código individual para cada dente.

Três tipos de dente (incisivos centrais, primeiros pré-molares e primeiros molares) de cada quadrante do arco maxilar e mandibular foram analisados em cada animal de cada grupo. Doze dentes foram, portanto, retirados de cada animal de investigação e grupo controle, de modo que o número total das amostras de dente no estudo foram 168.

Na preparação das amostras foi usada resina de montagem epóxi (resina de diglicidil éter) e epóxi endurecedor de montagem (N-Aminoetilpiperazina), seguido do teste de dureza do dente.

Os resultados apresentados mostram a possibilidade de o consumo de aspirina por gestantes causar anomalias congênitas nos tecidos dentais durante a odontogênese, comprometendo a dureza do esmalte da dentina. Os autores desaconselham o consumo de aspirina durante a gestação.

Miní e colaboradores (2012) também desaconselham o consumo de aspirina durante a gestação. Quando necessário o uso em procedimentos odontológicos, o tempo de administração deve ser restrito, a fim de prevenir os possíveis efeitos negativos para a saúde materno-fetal.

O cirurgião-dentista precisa ter conhecimento dos aspectos patognômicos das alterações dos tecidos dentários e dos fatores etiológicos e clínicos para fornecer um correto diagnóstico e traçar um plano de tratamento adequado e eficaz visando à preservação da estrutura dentária, dando ao paciente condições para uma boa saúde bucal (CAMPOS et al., 2015; SALAS et al., 2016; PINHEIRO et al., 2020).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na presente revisão, os estudos experimentais relacionaram a exposição de teratógenos ambientais com o desenvolvimento de defeitos nos tecidos dentários, tendo como consequências alterações na morfologia e dureza dos tecidos dentários, o que pode ser representativo dos efeitos de teratógenos em seres humanos. Diante da toxicidade evidenciada, deve ser dada atenção à exposição de mulheres gestantes à teratógenos.

Espera-se que o presente trabalho contribua com a atualização dos profissionais da equipe multidisciplinar de saúde e dos profissionais das ciências biológicas, para que possam agir como agentes transformadores da saúde ambiental e humana.

## REFERENCES

BASSETTI, A.C; ASSUNÇÃO, C; SILVA, J.Y.B; DALLEDONE, M. Condições de saúde bucal e prevalência de hipomineralização molar-incisivo (HMI) em pacientes autistas: estudo piloto. **RSBO**, v.17, n.1, p55-62, 2020.

CAMPOS, P.H; DOS SANTOS, V. D.R.A; GUARÉ, R.O; DINIZ, M.B. Dente hipoplásico de Turner: relato de casos clínicos. **RFO UPF**, v.20, n.1, p.88-92, 2015.

COSTA NETO, J.M; BLANCO, N.S; ANDRADE, V.M; SOUZA, T.D.C; BORGES, K.B; MIRANDA, R.A; MARTINS FILHO, E.F; QUESADA, A.M. Uso da diatermia bipolar para obliteração vascular em ovário histerectomia de gatas. **JIBI**, v. 3, n. 1, p. 5-10, 2018.

KELLER, J.M; HUET-HUDSON, Y.M; LEAMY L.J. Qualitative Effects of Dioxin on Molars Vary Among Inbred Mouse Strains. **Arch Oral Biol**, v.52, n.5, p. 450-454, 2007.

MAGALHÃES, L.E. A ciência e os animais de laboratório. **RESBCAL**, v. 1 n. 1, p. 7-13, 2012.

MINI E. Automedicación en gestantes que acuden al instituto nacional materno perinatal, Perú 2011. **Rev. perú. med. exp.salud publica** 2012; 29

MORITA, W; MORIMOTO, N; JERNVALL, J. Mapping molar shapes on signaling pathways. **PLoS Comput Biol**, v. 16, n. 12, p. 1-14, 2020.

NAZIR, S; ALI, A; ZAIDI, S. Micro Hardness of Dental Tissues Influenced by Administration of Aspirin During Pregnancy. **Int. J. Morphol**, v. 33, n.2, p. 586-593, 2015.

PATRIZI, B; DE CUMIS M.S. TCDD Toxicity Mediated by Epigenetic Mechanisms. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 12, p. 1-15, 2018.

PINHEIRO, J.C.; SILVA, L.A.M.; SILVA, G.G; GONÇALVES, G.C.; ALMEIDA, D.R.M.F.; LEITE, R.B. A importância da anatomia dentária para a odontologia: revisão de literatura. **Revista Pró-UniversUS**, v. 11, n. 1, p. 98-102, 2020.

QUEIROZ NETA, L.B; SANTOS, M.V.O; BORGES, A.A; PEREIRA, A.F. Otimização do ensaio de azul cresil brilhante visando à seleção qualitativa de oócitos bovinos derivados de ovários submetidos a diferentes temperaturas e tempos de transporte. **JIBI**, v.4, n. 1, p. 5-9, 2019.

SALAS, M.M.S; CHISINI, L.A; CASTANHEIRA, V.S; CASTRO, I.S; TEIXEIRA, L.S; DEMARCO, F.F. Defeitos de esmalte não fluoróticos em crianças: aspectos clínicos e epidemiológicos. **RFO UPF**, v.21 n.2, p.251-259, 2016.

SANTOS, E; BORGES, E. F; BARRETO, L; MOREIRA, C. V; QUEIRÓZ, C. Displasia cemento-óssea florida: relato de dois casos tratados por diferentes abordagens. **RFO UPF**, v. 24, n. 1, p.132-140, 2019.

SAHLBERG, C; POHJANVIRTA, R; GAO, Y; ALALUUSUA, S; TUOMISTO, J; LUKINMAA, P. Expression of the mediators of dioxin toxicity, aryl hydrocarbon receptor (AHR) and the AHR nuclear translocator (ARNT), is developmentally regulated in mouse teeth. **Int. J. Dev. Biol**, v.46, n.3, p.295-300, 2002.

SILVA, Í.C.B; ANDRADE, F.B.C.D; SANTOS, D.B.N; AZEVEDO, D.C; FALCÃO, A.C.S.L.A. Desenvolvimento do sistema estomatognático durante a vida intrauterina – revisão de literatura. **Rev. Odontol. Univ**, v.31, n.1, p. 47-56, 2019.

STEJSKALOVA, L; DVORAK, Z; PAVEK, P. Endogenous and exogenous ligands of aryl hydrocarbon receptor: current state of art. **Curr Drug Metab**, v. 12, n. 2, p. 198-212, 2011.

VALDES SILVA, Yaimara; SANCHEZ RAMIREZ, Eliset; FUENTES ARENCIBIA, Santiago. Malformaciones congénitas relacionadas con los agentes teratógenos. **CCM**, Holguín , v. 22, n. 4, p. 652-666, 2018 .