

Cal. 2000 B

Codigo 092028658

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD



**ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DEL DAÑO  
GENÉTICO-AMBIENTAL DE LAS RADIACIONES IONIZANTES  
EN EL PERSONAL OCUPACIONALMENTE EXPUESTO DEL  
HOSPITAL CIVIL DE BELEN DE GUADALAJARA, JAL. 2000-2001**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD AMBIENTAL**

**PRESENTA:  
LIC. BIOL. ISRAEL CEJA ANDRADE**

**GUADALAJARA, JAL. ABRIL 9 DEL 2003**

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
Centro Universitario de Ciencias de la Salud  
*Maestría en Ciencias de la Salud Ambiental*

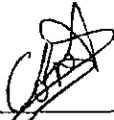
Subcomité de Tesis e Investigación  
Dra. Martha Georgina Orozco Medina.  
Titular por el CUCBA  
Dr. Miguel Raygoza Anaya.  
Titular por el CUCS  
Presente:

Por medio de la presente nos permitimos informar a ustedes, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el pasante Israel Ceja Andrade. Con el título: Análisis y determinación del daño genético - ambiental de las radiaciones ionizantes en el personal ocupacionalmente expuesto del Hospital Civil de Belén en Guadalajara, Jal., 2000-2001. Manifestamos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de la fecha de presentación y defensa del mismo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva dar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

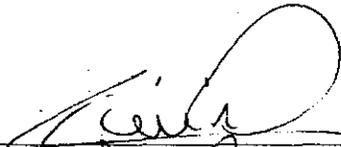
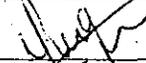
Guadalajara, Jalisco a Marzo 28 del año 2003.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Alfredo Corona Rivera.  
Director de tesis.

  
\_\_\_\_\_  
Biol. Israel Ceja Andrade.

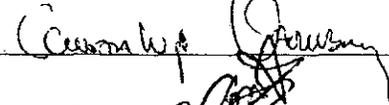
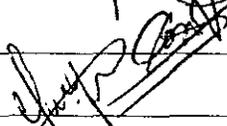
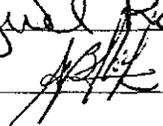
Asesores

1. Dr. Guillermo Moisés Zúñiga González.
2. Dra. Martha Georgina Orozco Medina.
3. Dr. Miguel Raygoza Anaya.

  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_  
Miguel Raygoza Anaya

Sinodales

1. M.G.S.S. Silvia Graciela León Cortes.
2. Dra. Guadalupe Garibay Chávez.
3. Dr. Alfredo Corona Rivera.
4. Dra. Martha Georgina Orozco Medina. ✓
5. Dr. Miguel Raygoza Anaya. ✓
6. M.C. Alberto Jiménez Cordero.  
Suplente

  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_  
Miguel Raygoza Anaya  
\_\_\_\_\_  


## NOMENCLATURA

- $\alpha$ : Alfa.
- ADN: *Ácido desoxirribonucleico.*
- AC: *Aberraciones cromosómicas.*
- AN: *Anormalidades nucleares.*
- ANI: *Cromosoma anillo.*
- ATA: *Anafase tardía.*
- ATE: *Anafase temprana.*
- $\beta$ : Beta.
- BN: *Célula binucleada.*
- CC: *Cromatina anormalmente condensada.*
- CL: *Cariolisis.*
- CR: *Cariorexis.*
- CMN: *Célula micronucleada.*
- DCM: *Deleción cromosómica.*
- DCT: *Deleción cromatídica.*
- DIC: *Cromosoma dicéntrico.*
- DIM: *Diminuto.*
- DSB: *Double-Strand Breaks.*
- $e^-$ : *Electrón.*
- ENR: *Endorreduplicación.*
- eV: *Electrón volt.*
- FA: *Fragmentos acéntricos.*
- $\gamma$ : *Gamma*
- GCM: *Gap cromosómico.*
- GCT: *Gap cromatídico.*
- Gy: *Grey.*
- Kb: *kilo base.*
- KeV: *kilo electrón volt.*
- MeV: *mega electrón volt.*
- mSv: *milli Sievert.*
- NL: *Núcleo lobulado.*
- PN: *Picnosis.*
- RCM: *Rompimiento cromosómico.*
- RCT: *Rompimiento cromatídico.*
- r-X: *Rayos X*
- s: *Segundos.*
- SSB: *Single-Strand Break.*
- Tras. *Traslación.*
- TRT: *Tetrradial.*
- Z: *Peso atómico.*

Nomenclatura.		
1.	Resumen.	1
2.	Introducción.	3
3.	Justificación.	4
4.	Objetivos.	4
5.	Hipótesis.	4
6.	Antecedentes.	5
7.	Marco conceptual	6
7.1	Estructura Atómica.	7
7.1.1	Desintegración radiactiva.	8
7.1.2	Poder de penetración de la radiación.	9
7.1.3	Interacción radiación-materia.	10
7.2	Efectos químico-biológicos por radiación.	15
7.2.1	Acción directa e indirecta.	16
7.2.2	Configuración y papel del ADN.	17
7.2.3	Reacción con el ADN.	18
7.2.4	Escisión de la cadena de ADN.	19
7.2.5	Mecanismos de reparación del ADN.	20
7.3	Factores de susceptibilidad y biomarcadores.	22
7.3.1	Aberraciones cromosómicas.	22
7.3.2	Los Micronúcleos.	25
7.3.3	Anormalidades nucleares en mucosa bucal.	26
7.4	Vigilancia epidemiológica ambiental.	28
7.4.1	Mapa conceptual.	28
7.4.2	Representación del proceso de vigilancia epidemiológica.	28
7.4.3	La vigilancia centinela.	30
7.4.4	Normas fundamentales en el ambiente laboral radiactivo.	31
8	Material y métodos.	32
8.1	Grupo de estudio.	32
8.2	Procedimiento experimental.	33
8.3	Análisis estadístico.	33
9.	Resultados.	35
9.1	Cifras de la prueba de micronúcleos.	35
9.1.1	Frecuencia de micronúcleos de mucosa bucal.	36
9.1.2	Frecuencia de otras anomalías nucleares.	36
9.2	Cifras de las aberraciones cromosómicas.	38
9.2.1	Frecuencia de aberraciones cromosómicas en muestras basales.	42
9.2.2	Frecuencia de aberraciones cromosómicas en muestras radiadas.	42
9.2.3	Comparaciones intragrupo.	42
9.3	Historial dosimétrico del POE.	43
9.4	Comparaciones estadísticas.	44
9.4.1	Pertinencia de los métodos.	45
10.	Discusión	47
11.	Conclusiones.	49
12.	Recomendaciones.	50
13.	Referencias.	51
	Glosario.	57
	Anexos.	58

## 1. RESUMEN

Uno de los mayores problemas que enfrenta la salud ambiental, es la alta contaminación a nivel global, fenómenos asociados con efectos nocivos para la salud y con el incremento en el riesgo de contraer cáncer [1]. Así mismo, algunas actividades humanas incrementan esos factores de riesgo, al utilizar de forma cotidiana sustancias químicas o por estar expuestos a fenómenos físicos como las radiaciones [2].

En el caso de fenómenos físicos, los efectos por exposición a radiaciones desde fuentes externas son un serio problema, el cual ha despertado el interés por desarrollar marcadores biológicos que permitan la detección de una reacción del organismo debido a exposiciones accidentales, ocupacionales o ambientales [3]

Aún en ambientes controlados, el personal ocupacionalmente expuesto a radiaciones ionizantes (POE) presenta un riesgo potencial mayor y constante de desarrollar disfunciones biológicas. Por tal motivo, el POE se ve obligado a utilizar métodos de prevención, evaluación y control de riesgo ocupacional, el cual es llevado a cabo por sistemas de dosimetría física, el cual no en todos los casos es utilizado.

En la actualidad, el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales y micronúcleos en linfocitos de sangre periférica, poseen mayor importancia en el biomonitoreo [4]. Esto debido a que la radiación en exposiciones crónicas, puede manifestar efectos biológicos y en particular daño al material genético, fenómenos que se asocian con carcinogénesis [5].

Como contribución original, en este trabajo se utilizó una técnica alterna conocida como prueba de detección de micronúcleos en mucosa bucal, método rápido que evalúa el efecto sistemático e inmediato de agentes genotóxicos, el cual no se ha utilizado para niveles bajos de exposición a radiación y en virtud de las capacidades del análisis de aberraciones cromosómicas, estos dos se probaron como sistemas alternativos para biomonitoreo de rutina en POE.

Para evaluar la presencia basal de micronúcleos en mucosa bucal y la frecuencia de aberraciones cromosómicas tanto espontáneas como inducidas (a 1.5 Gy), colaboraron 13 individuos del POE con sus respectivos controles, pareados por edad y sexo. A los cuales, se les realizaron frotés para observar micronúcleos en mucosa donde se analizaron 2000 células por cada individuo. Además, para el estudio cromosómico, a cada individuo se le realizaron cultivos celulares, analizándose 230 células en mitosis por cultivo basal y 230 por cultivo radiado (considerando a las aberraciones más importantes a las traslocaciones, cromosomas dicéntricos y anillos). Todo esto tanto en POE como en controles.

En los resultados obtenidos, la prueba de micronúcleos de mucosa fue capaz de detectar diferencias significativas entre controles y POE con registros de dosimetría física bajos. Al igual que el estudio de aberraciones cromosómicas, que en muestras basales presentó significancia entre los dos grupos. No así con las muestras radiadas, donde las aberraciones cromosómicas resultaron ser muy similares entre el grupo control y el POE.

Cabe señalar que a los métodos utilizados se les aplicaron pruebas para calificar sus alcances y limitaciones; La prueba de micronúcleos presentó una moderada sensibilidad (0.75) y baja especificidad (0.50). En el caso del estudio cromosómico, también presentó una moderada sensibilidad (0.75) pero una adecuada especificidad (0.91).

Por lo anterior, es posible considerar al estudio cromosómico como un buen sistema anual de vigilancia epidemiológica, ya que daños cromosómicos provocados por exposiciones crónicas o agudas, se pueden seguir presentando hasta 7 años después. En cuanto a la prueba de micronúcleos, es factible utilizarse cuando se sospeche de una exposición aguda (sobre exposición y/o un accidente radiológico), esto debido a que el ciclo de vida de las células de mucosa bucal es condicionado por los hábitos alimenticios y de higiene, que se reduce a un par de meses.

En virtud de que ambos métodos fueron capaces de detectar daño en bajas dosis de exposición, se discuten implicaciones favorables para su implementación de rutina como alternativa de biomonitorio en POE no posea ningún tipo de control dosimétrico, debido a la alta frecuencia de estos biomarcadores, son claros indicadores de riesgo de cáncer, lo cual debe tener una aplicación específica en las prácticas epidemiológicas y en las políticas de la salud ambiental [6].

## 2. INTRODUCCIÓN

La tecnología y la medicina actual, utiliza sofisticados equipos e instrumentos radiactivos para diagnóstico y tratamiento de enfermedades [7]. En 1995 el mundo de la radiología celebró los cien años del descubrimiento de un nuevo tipo de rayos penetrantes descubierto por el físico alemán Conrad Roentgen en 1895, quien estudiaba los rayos catódicos en un tubo de descarga gaseosa de alto voltaje. Roentgen llamó a los rayos invisibles "rayos X" por su naturaleza desconocida [8,9].

En esa misma década, en el laboratorio de física del museo de historia natural de Paris, a partir de unos estudios sobre fluorescencia en compuestos de uranio, Henri Becquerel, descubrió el fenómeno de la radiactividad, este hallazgo se hizo publico el 2 de Marzo de 1896, estableciéndose por primera vez la existencia de este fenómeno [10].

Por otra parte Marie Curie descubrió que había elementos más radiactivos que el uranio, (el polonio y el radio). Marie Curie fue la primera en utilizar el término 'radiactivo' para describir los elementos que emiten radiaciones cuando se descomponen sus núcleos [8].

También en 1896 dos físicos franceses Oudin y Barthelemy obtuvieron mediante rayos X una imagen de huesos de una mano en la Academia Francesa. Sin embargo, como aplicación, el primer diagnóstico médico se realizó en la armada de Sudan en 1898 y en ese mismo año en Nueva York se realizaron 28 pruebas de diagnostico. En el año de 1900, Rutherford en asociación con Owen y la Universidad de McGill de Montreal, realizaron el descubrimiento de los diferentes tipos de radiactividad ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ), datos que se convirtieron en el centro de atención de la física [8].

¿Pero que acerca de los efectos biológicos? En este aspecto Pierre Curie realizó unos experimentos aplicando radiación emanada por el radio (elemento) a renacuajos. Y observó que esas emanaciones producían severas anormalidades en el crecimiento de los mismos. Pero no fue hasta el año de 1902 que se reportó el primer cáncer de piel provocado por los rayos X, lo que motivó a muchos científicos a realizar estudios sobre la radiación en sistemas biológicos [8].

El primer estudio a nivel reproductivo fue realizado en ratones irradiados y fue llevado a cabo por A Schonberg en 1903, posteriormente se realizó un estudio patológico utilizando radiación ionizante por Heineke en 1905, utilizando ratones, conejos, cerdos y perros. Y fue hasta el año de 1922 cuando la radiación biofísica nace como ciencia postulada por Dessauer's quien realizó efectos cuantitativos de la radiación. En 1927 J. Muller diseñó un método para buscar cualquier mutación letal posible en el cromosoma X de *Drosophila*. Muller utilizando una prueba, en la cual midió las frecuencias letales tras irradiar machos con rayos X y sus resultados aportaron las primeras pruebas experimentales sobre la existencia de mutágenos, en este caso los r-X [11].

El 4 de julio de 1934, víctima de sus propias investigaciones muere Marie Curie y su hija tiempo después, consecuencia de las largas exposiciones radiactivas del radio y el polonio, ambas desarrollaron anemia perniciosa [8]. En los años siguientes se comenzó a escribir un libro llamado "Resultados y conceptos sobre radiación y genética clásica", por Lea en 1942, Zimmer en 1947, y en 1954-56 por Holleander, donde algunos de los conceptos y conclusiones mas importantes fueron que: al irradiar rayos X de baja energía y rayos Uv en células germinales, se inducen mutaciones somáticas además de desarrollar cáncer [12].

### 3. JUSTIFICACIÓN

En diversos servicios donde se utiliza material radiactivo, existe una gran necesidad de conocer exactamente cuales son los efectos a nivel genético, que ocurren al exponerse a las distintas formas de energía en un ambiente laboral, esto principalmente en personal ocupacionalmente expuesto (POE) a radiaciones ionizantes. Si bien, para controlar y establecer las condiciones de seguridad radiológica y ambiente laboral óptimo. En México se cuenta con una serie de normas que rigen en todos los centros de trabajo del territorio nacional donde se produzcan, manejen, almacenen o transporten fuentes de radiaciones ionizantes.

Uno de los puntos más importantes es la NOM-017-STPS-1993. La cual obliga proporcionar al POE el equipo de protección personal, equipo de detección de radiación ionizante (el cual debe ser calibrado periódicamente, y del tipo, sensibilidad y características de acuerdo a lo establecido), además de capacitarlo en su uso y asegurarse que sea utilizado. Con objeto de mantener una vigilancia médica permanente, la NOM-026-NUCL-1999, menciona que se deberá llevar un registro mensual de dosis mensual acumulada y del total acumulado durante la vida laboral del individuo, además de exámenes sucesivos, a fin de disponer de elementos de referencia que permitan apreciar la importancia de cualquier modificación ulterior y que suministren información en caso de exposiciones accidentales.

Sin embargo, en términos reales, no todo el POE cuenta con sistemas físicos de detección y/o monitoreo. Lo que aumenta la necesidad de contar con un sistema alternativo de biomonitoreo. Sin embargo, cabe señalar que en el caso de la técnica de identificación de micronúcleos de mucosa bucal, requiere ser evaluada previamente para su uso, asumiendo que el POE esta expuesto a dosis bajas.

Ante tal situación, consideramos que hacer un estudio genético para conocer si existen alteraciones cromosómicas en POE, puede aportar datos importantes sobre lo que sucede con estos trabajadores, lo que serviría en un futuro para tomar estrategias de monitoreo, proyectar estos datos a otros servicios que posean o no, control de dosimetría física y por último, proporcionar mayor información respecto a los efectos biológicos por exposición a bajas dosis de radiaciones ionizantes.

### 4. OBJETIVO GENERAL

Determinar y analizar el daño genético-ambiental de las radiaciones ionizantes en el personal ocupacionalmente expuesto del Hospital Civil de Belén.

#### 4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Cuantificar presencia de micronúcleos en células de mucosa bucal.
- Cuantificar la frecuencia y proporción de daño cromosómico en linfocitos de sangre periférica de los grupos de estudio.
- Correlacionar los registros de dosimetría física y de Biomarcadores.
- Realizar un análisis comparativo de ambos métodos de biomonitoreo.

### 5. HIPÓTESIS

Las pruebas, tanto de micronúcleos de mucosa bucal como el análisis de aberraciones cromosómicas, tienen la capacidad y sensibilidad de detectar alteraciones genéticas en POE tras haber sido expuesto a niveles de radiación relativamente bajos y/o dentro de la normatividad laboral actual.

## 6. ANTECEDENTES

La dosimetría biológica se ha utilizado en el contexto de las radiaciones desde 1962 por los investigadores Bender y Gooch, quienes sugirieron el uso de linfocitos para hacer análisis de aberraciones cromosómicas, para detectar y cuantificar la exposición a la radiación como un sistema de información complementaria a la dosimetría física [12].

No obstante, buscando una forma simple y de rápida detección, se desarrolló la prueba de micronúcleos. La cual se aplicó en 1973 por Heddle, quien contabilizó micronúcleos de linfocitos después de haberlos expuesto a agentes genotóxicos, encontró que como única desventaja, era que los linfocitos no responden al estímulo mitogénico de forma homogénea, problema resuelto por Fenech y Morley en 1985, adicionando en los cultivos celulares citocalasina B [12].

En 1992 Straume, estimó dosis en empleados expuestos a bajas dosis de radiación crónica, correspondiente a 32 años, encontrando un alto nivel de cromosomas dicéntricos y de traslocaciones, además de una mayor frecuencia de micronúcleos en relación con su grupo control. En 1994 Streffer, señaló que existen fenómenos que pueden provocar un factor de confusión en relación con los micronúcleos de linfocitos binucleados, los cuales pueden ser la edad, sexo, el consumo de alcohol y de tabaco [12].

Si bien, la respuesta en los seres vivos varía de una especie a otra, el estudio de daños cromosómicos inducidos en linfocitos, ha sido plenamente establecido para monitoreo de efectos genotóxicos [13]. Habitualmente la dosimetría biológica evalúa el efecto agudo de dosis medias o altas en situaciones extraordinarias. Sin embargo, las exposiciones habituales en POE son teóricamente bajas. Se considera una dosis baja a una máxima exposición anual de 20 a 50 mSv en POE. Por lo tanto, el uso de la dosimetría cromosómica es de utilidad si el ambiente laboral o las normas de seguridad no son adecuados [14].

Una forma directa de evaluar efecto biológico, es observar incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas inducidas, en particular, cromosomas dicéntricos, cuya frecuencia basal es alrededor de .39/1000 células y considerando que en dosis por debajo de 100 mSv de rayos gamma o 50 mSv por neutrones de fisión se encuentra el límite mas bajo de detección [14]. Una alternativa adicional constituye el uso de la prueba de micronúcleos, la cual estima daño cromosómico estructural [13].

Un fenómeno biológico que influye ambas pruebas es el de respuesta adaptativa, que consiste en una disminución en la frecuencia de daño a bajas dosis, debido a la activación de mecanismos de reparación. En estudios de exposición a radiación ocupacional, se ha observado que en las células que poseen cromosomas dicéntricos inestables; persisten en sangre periférica con una vida media de tres años, por lo que la prueba es de utilidad considerando dosis acumuladas anuales.

Por último, los investigadores recomiendan que se revise minuciosamente el perfil epidemiológico y el historial de exposición en POE para complementar la formación obtenida por la dosimetría biológica. Sin embargo, En los hospitales de México no se aplica de rutina la dosimetría biológica, y en el mejor de los casos, solo se cuenta con el registro de las dosis recibidas por cada trabajador, exámenes médicos de pre-empleo y los exámenes clínicos anuales rutinarios que permiten conocer a grandes rasgos el estado de salud del trabajador.

## 7. MARCO CONCEPTUAL

Diversos estudios han mencionado la importancia que tienen los múltiples factores ambientales con relación a la salud de los individuos. Uno de esos factores es la radiactividad, fenómeno natural que ha existido siempre en el universo y que forma parte de nuestra vida cotidiana [10]. Sin embargo, en la actualidad además de las fuentes radiactivas naturales, se enlistan las plantas nucleares, algunos procesos industriales y algunos servicios médicos entre otros (fig. 1).

La radiación consiste principalmente en la emisión y propagación de energía a través del espacio. Sin embargo, para visualizar al fenómeno radiactividad con mayor facilidad, podemos citar a la luz visible como ejemplo, la cual es solo una pequeña parte del vasto espectro electromagnético. Esta pequeña cantidad variable se le conoce como longitud de onda [15].

Sin embargo, con los avances científico-tecnológicos, algunas radiaciones se han generado de forma artificial. No obstante, si exploramos conjunta y sistemáticamente, las radiaciones comprenden un amplio espectro (ver espectro electromagnético anexo 1). Las que producen la ondas hertzianas (radiofrecuencias y microondas), radiación infrarroja, visible, ultravioleta, rayos X y rayos gamma [16]. En el caso de las ondas de radiofrecuencia, la radiación infrarroja y el espectro visible, se presume que no tienen efectos negativos sobre la salud.

Las microondas (utilizadas comúnmente en sistemas de radar y de telecomunicaciones) con frecuencias mayores a 1250 Mhz, son potencialmente capaces de producir alteraciones genéticas [17]. Los rayos ultravioleta, son principalmente emitidos por el sol, en equipos ópticos y en algunos sistemas de esterilización, que en exposiciones prolongadas pueden producir daños en la piel [11].

Los rayos X de baja energía son emitidos por monitores de TV, computadoras fotocopiadoras entre otros, y los r-X de alta energía, son los utilizados para la diagnosis médica y en algunas industrias. Por ultimo los rayos gamma, traslapan el límite superior del espectro de rayos X y estos provienen de sustancias radiactivas, reactores nucleares y de la radiación cósmica [18].

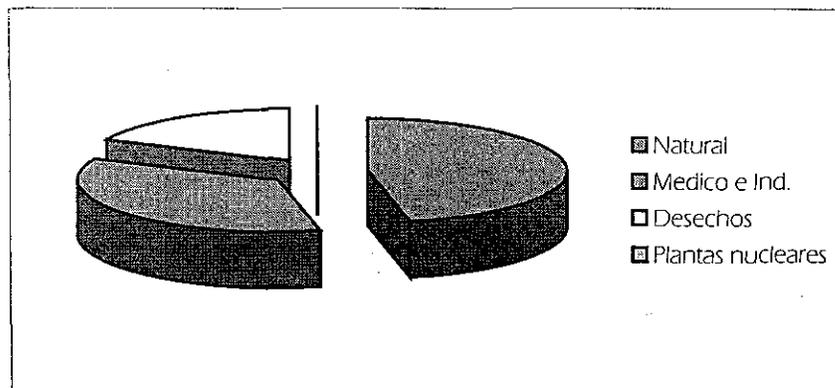


Fig. 1. Grafica que muestra la proporción de las distintas fuentes radiactivas, la mayor parte de la radiación a la que estamos expuestos tiene un origen natural (56%). La radiación emitida por servicios médicos e industriales ocupa un 31.7 %. Un 12% es debido a los desechos y de pruebas de armas y finalmente un 0.03% es debido al funcionamiento de generadores nucleares [18].

Para fines de este trabajo, solo se tomará en cuenta el riesgo ocupacional, el cual está delimitado por el uso de materiales y dispositivos que producen radiaciones ionizantes. En estos casos, la irradiación puede ser externa o interna. En el primer caso, el riesgo dependerá de la dosis, del tipo de radiación y de su energía. En el segundo, se presenta cuando la fuente se encuentra dentro del organismo. Cabe señalar, que los materiales radiactivos pueden ingresar al cuerpo por ingestión, inhalación, por absorción a través de la piel o bien por la sangre [20].

Sin embargo, para entender los fenómenos radiactivos, es necesario conocer la estructura atómica. En este aspecto, se han creado modelos que explican los procesos que se llevan a cabo en el mundo subatómico. Aún en la actualidad, se tiene la tendencia a pensar en el modelo de Bohr a pesar que ha sido sustituido por modelos que permiten obtener mejores resultados, pero que son cada vez más abstractos.

### 7.1 ESTRUCTURA ATOMICA

Los modelos contemporáneos del átomo han dado lugar a teorías matemáticas imposibles de representar por medio de imágenes. Sin embargo, para ser útil, un modelo del átomo debe ser congruente con un modelo de la luz. La fuente de toda emanación luminosa es el movimiento de los electrones en el interior del átomo. Los principales modelos de la luz que han existido son el corpuscular y el ondulatorio [18].

La física actual nos dice que hay cantidades cuantizadas: como la energía y el momento angular. La energía de un haz de luz está cuantizada, es decir, viene en paquetes o cuantos; solo pueden existir números enteros de cuantos. Los cuantos de la luz, o en general de cualquier tipo de radiación electromagnética, son fotones; los cuales tienen una energía en reposo nula. La energía total de un fotón se debe a su energía cinética: la energía de un fotón es directamente proporcional a su frecuencia [21].

Así, utilizando el modelo de Bohr, el núcleo está constituido de partículas llamadas nucleones que son protones cuando poseen carga eléctrica positiva y neutrones cuando son eléctricamente neutros. Los neutrones y los protones tienen casi la misma masa, pero la del neutrón es algo mayor. La masa de los nucleones es casi 2000 veces superior a la masa de los electrones, de modo que para fines prácticos, la masa del átomo es igual a la sola masa del núcleo. En un átomo eléctricamente neutro hay tantos protones en el núcleo como electrones en órbita. El número de protones determina las propiedades químicas del átomo, ya que la carga nuclear determina la estructura de las órbitas electrónicas posibles [18].

La función principal de los neutrones consiste en hacer soporte nuclear que evita que el núcleo se desintegre, por otra parte, uno de los factores que limitan el tamaño del núcleo atómico es el hecho de que los neutrones mismos no son estables por sí solos. Cabe señalar, que el número de neutrones no afecta directamente la estructura electrónica y por lo tanto, no afecta a la química del átomo.

En apariencia los neutrones precisan la presencia de protones para evitar una desintegración. Sin embargo, una vez que el núcleo ha alcanzado cierto tamaño, el número de neutrones es tan superior al de los protones que en la mezcla no hay suficientes protones para impedir que los neutrones se desintegren. Los neutrones que no están cerca de un protón se descomponen en un protón y un electrón, así el núcleo se desintegra o en forma similar, es radiactivo [18].

### 7.1.1. DESINTEGRACIÓN RADIATIVA.

El decaimiento de los átomos radiactivos se ha descrito como un proceso de desintegración: Sin embargo, esta definición no debe tomarse en sentido estricto, ya que en realidad el núcleo del átomo no se desintegra totalmente, solamente una parte de él escapa [23].

Todo elemento mas pesado que el bismuto se desintegra de una u otra manera, por tanto tales elementos son radiactivos. Sus átomos pueden emitir tres tipos de radiación, los cuales reciben el nombre de las tres primeras letras del alfabeto griego;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Tal desintegración radiactiva es influenciada por fenómenos naturales o artificiales, durante el cual se emiten partículas alfa, beta y radiación gamma respectivamente [9]. Este tipo de radiaciones se puede clasificar de acuerdo a su origen o a sus propiedades físicas, en dos tipos principales:

- a) Aquellas que poseen masa y que pueden o no tener carga.
- b) Aquellas que solo poseen energía (radiación electromagnética) y no poseen carga.

Los rayos *alfa* tienen carga eléctrica positiva, los rayos beta son negativos y los rayos gamma son eléctricamente neutros (fig.2). Es posible separar estos tres tipos de rayos colocando un campo magnético en su trayectoria [9].

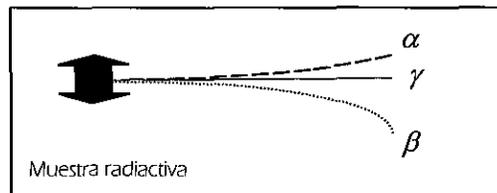


Fig. 2. Trayectorias seguidas por las tres radiaciones provenientes de material radiactivo en presencia de un campo magnético. Se ha exagerado la desviación relativa de las radiaciones  $\alpha$  y  $\beta$  [9].

Un rayo alfa es una corriente de partículas que están hechas de dos protones y dos neutrones y que son idénticos a los núcleos de los átomos de helio (fig.3). Dichas partículas se les conocen como partículas *alfa* [22].

La emisión *beta* es de dos tipos y esta constituida por la masa de un electrón; esta emisión puede tener carga positiva (positrón) o carga negativa (negatrón). La emisión del negatrón resulta de la transformación de un neutrón en protón, mas un electrón [8]. La emisión del positrón resulta de la transformación de un protón en un neutrón más un electrón positivo (positrón). Cuando una partícula beta se emite con una energía menor a la máxima de la transición, la diferencia se irradia en forma de un neutrino, el cual no tiene mucha importancia en radiobiología (fig.3).

La desintegración *gamma* ocurre cuando un átomo posee exceso de energía, se dice que esta excitado o en estado isomérico. Este fenómeno es frecuente en algunos tipos de decaimiento beta. En este caso el núcleo emite rápidamente la energía sobrante y forma radiación electromagnética de tipo gamma, desapareciendo la excitación (fig.3). La radiación gamma tiene una naturaleza característicamente ondulatoria. La cantidad que lleva consigo un fotón, es proporcional a su frecuencia como forma ondulatoria [22].

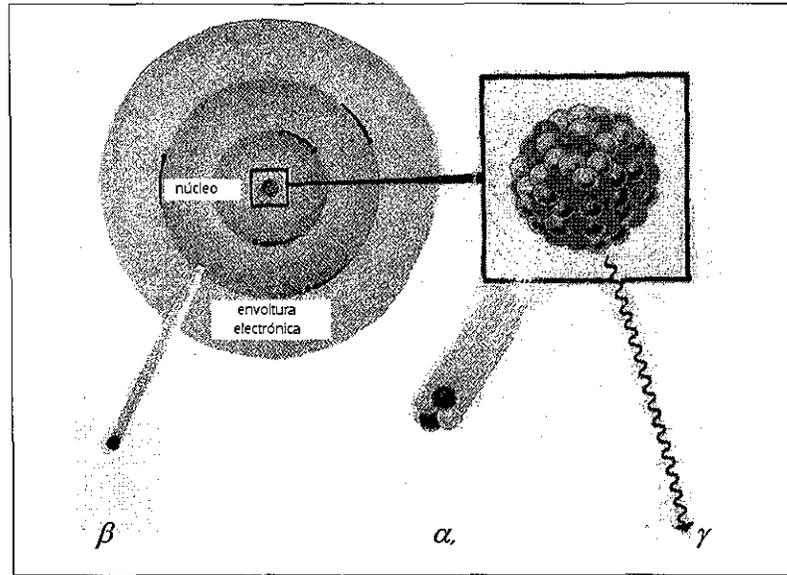


Fig.3. Una partícula alfa ( $\alpha$ ) se forma por dos protones y dos neutrones que actúan como una única partícula. Son núcleos de átomos de helio. En la desintegración beta ( $\beta$ ) un neutrón se convierte en un protón emitiendo un antineutrino y una partícula beta cargada negativamente, o bien un protón se convierte en un neutrón emitiendo un neutrino y una partícula beta positivamente cargada. Por último, los rayos gamma ( $\gamma$ ) son emitidos por el núcleo de un átomo tras sufrir una desintegración radiactiva. La energía del rayo gamma corresponde a la diferencia de energías entre el núcleo original y los productos de la desintegración [7].

### 7.1.2 PODER DE PENETRACIÓN DE LA RADIACIÓN

Existe una gran diferencia en los poderes de penetración de estos tres tipos de radiación, detener las partículas alfa es fácil, ya que son partículas relativamente lentas y debido a su doble carga positiva interactúa con las moléculas que encuentra en su camino [1]. Además, por su tamaño tiene muchas posibilidades de chocar, la partícula pierde rapidez al romper muchas de estas moléculas, dejando a su paso iones positivos y negativos, por lo que su poder de ionización es muy alto y su penetración es muy escasa [22]. Aún cuando no atraviese más que aire, se detiene al cabo de unos cuantos centímetros, atrapa un par de electrones sueltos y se transforma en un simple e inofensivo átomo de helio.

Una partícula beta es normalmente más veloz que una partícula alfa. Tiene una carga negativa y puede recorrer distancias mucho mayores al aire. La mayor parte de las partículas beta, salvo colisiones frontales, pierden su energía tras un gran número de colisiones con electrones atómicos, donde pierden rapidez hasta que se detienen del todo y pasan a formar parte del material en el que se encuentran como cualquier otro electrón. Su capacidad de ionización es inferior a las partículas alfa, pero su poder de penetración es mayor [18].

Los rayos gamma son los más penetrantes de estos tres tipos de radiación, debido a que no tienen carga. En ausencia de atracciones o desviaciones debidas a la fuerza eléctrica, los fotones gamma solo interactúan con un material absorbente cuando chocan frontalmente contra un electrón o un núcleo [7].

A diferencia de lo que ocurre con las partículas cargadas, una sola interacción basta para apartar un fotón del haz en que viaja. La razón principal de que los materiales compuestos de metales pesados sean buenos absorbentes es que poseen altas densidades de electrones (fig.4).

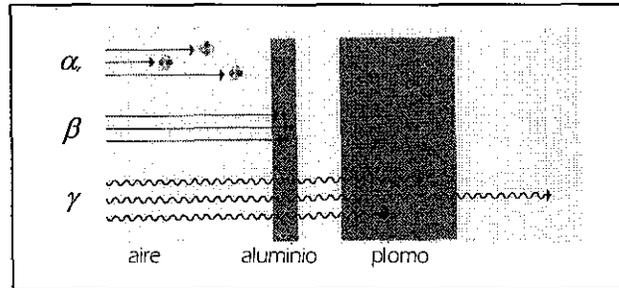


Fig.4. De las emisiones de fuentes radiactivas. Los rayos alfa tienen carga positiva y son detenidos en el aire o por un simple papel. Los rayos beta tienen carga negativa y atraviesan el papel, aunque son detenidos por una pantalla de aluminio. Los rayos gamma son neutros y solo pueden ser detenidos por un blindaje de plomo. En la actualidad, los rayos alfa se denominan partículas alfa, y se sabe que son núcleos de átomos de helio, con poca velocidad. Los rayos beta suelen llamarse hoy partículas beta, y se sabe que son electrones. Los rayos gamma, que conservan su nombre, son parte del espectro electromagnético. Como todas las ondas electromagnéticas, también pueden considerarse como partículas (fotones) [22].

### 7.1.3 INTERACCIÓN RADIACIÓN-MATERIA

Por interacción radiación-materia se entiende como el mecanismo mediante el cual, ésta cede energía a los átomos que encuentra en su trayectoria. Por lo tanto cuando la radiación pasa a través de un tejido o de otro medio absorbente, existirá una pérdida de energía. La energía impartida al medio con el cual interactuó da lugar a dos eventos. A estos se le conoce como energía absorbida (en ocasiones llamada energía impartida) y energía perdida. El total de energía incidente se le conoce como energía transferida [9].

Es posible que la interacción más sencilla sea la *dispersión*, la cual consiste en la desviación de una partícula de su trayectoria original, y ocurre debido a las fuerzas electromagnéticas de atracción o repulsión en relación con la nube electrónica de los átomos y con el núcleo (fig. 5). Cabe mencionar que las partículas  $\beta^-$  y  $\beta^+$  son desviadas con mayor facilidad de su trayectoria que las partículas  $\alpha$ , en virtud de que poseen una masa 8000 veces menor [23].

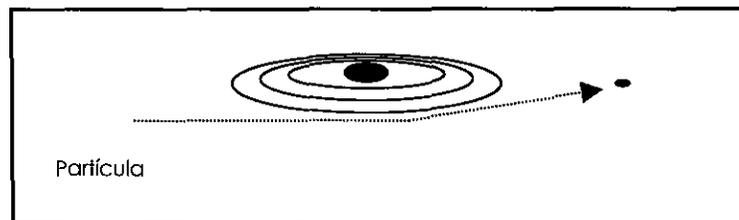


Fig. 5. Esquema donde se muestra una partícula ya sea  $\alpha$  ó  $\beta$  que desvía su trayectoria debido a su interacción con el arreglo estructural de algún sólido.

Otro tipo de interacción es la *ionización*, que consiste en la extracción de un electrón de un átomo. Esta interacción se produce fácilmente, pues la energía de amarre de los electrones en los orbitales es del orden de eV y la de la radiación ionizante es de MeV [23]. Un electrón así extraído, puede tener energía cinética suficiente para producir a su vez ionizaciones secundarias (fig. 6).

Después de la interacción, la energía de la radiación será menor en una cantidad igual a la suma de la energía de amarre del electrón en el átomo y su energía cinética. Este efecto es con mucho, el más importante tipo de interacción de las partículas cargadas con la materia [23].

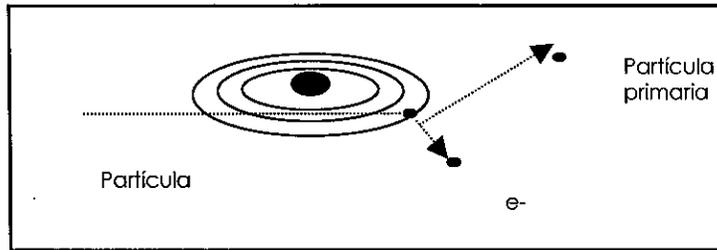


Fig. 6. Esquema donde se muestra la trayectoria de la colisión de una partícula cargada contra un electrón de un átomo, el cual provoca una ionización. El electrón expulsado también puede ser de alta energía.

Un tercer mecanismo de interacción, es la producción de *radiación de frenado* (fig.7), la cual consiste en la emisión de radiación electromagnética al desacelerarse una carga eléctrica. En este caso, un electrón es llevado bruscamente a la posición de reposo, debido a la repulsión que le ofrece la nube electrónica de un átomo pesado con la consiguiente emisión fotonica [24].

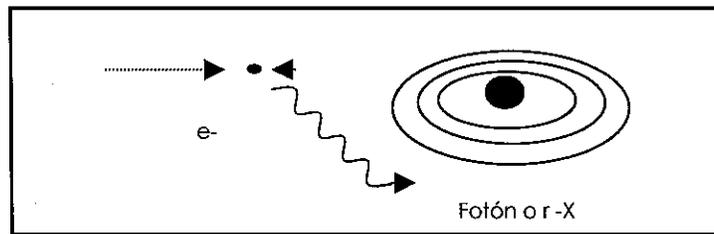


Fig.7. Esquema que representa la radiación de frenado, donde un electrón es llevado bruscamente a la posición de reposo, provocando una emisión fotónica o rayos X, la radiación así producida no recibe el nombre de radiación gamma.

Otro mecanismo es por *excitación*, la cual es provocada por la formación de huecos electrónicos de enlace fuerte, en niveles de energía internos de los átomos debido a la interacción de una partícula cargada (fig.8). El sólido queda en un estado excitado; para eliminar tal excitación procederá el decaimiento de un electrón de un orbital superior, siendo este decaimiento influenciado por el núcleo atómico, lo que provoca que los fotones tengan una longitud de onda específica dependiendo del elemento emisor. La diferencia en energías de los dos orbitales será la magnitud de energía que posean [24].

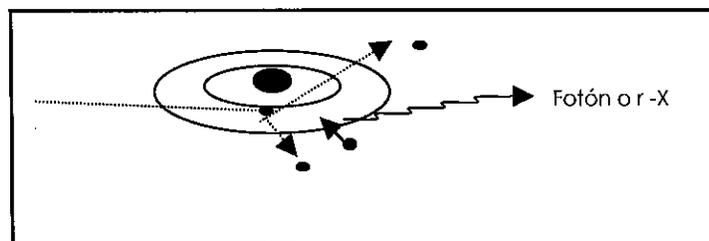


Fig.8. Esquema donde se representa a un electrón cambiando de orbital para eliminar la excitación y regresar a su estado basal de energía, provocando una emisión fotónica o rayos X; esta energía es igual a la pérdida que se manifieste en la energía cinética de la partícula cargada.

Existe otro mecanismo llamado *Aniquilación de Pares*, aquí, al juntarse una partícula y su antipartícula se convierten completamente en energía radiante: cuando se forma un positrón, tiene una vida muy corta. Después de perder la mayor parte de su energía cinética en colisiones, forma una especie de átomo con un electrón, a este átomo se le llama positronio [fig.9] y existe hasta que el electrón y el positrón se aniquilan mutuamente. La energía total, incluyendo la masa de reposo del par electrón-positrón, es cambiada en energía fotónica [25].

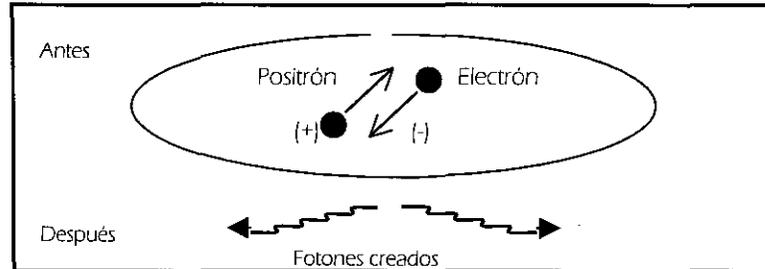


Fig.9. Esquema de la aniquilación de pares, este proceso ocurre por la colisión partícula - antipartícula que conduce a la aniquilación de ambas y la emisión de fotones de radiación de al menos 1.02 MeV.

De los mecanismos antes mencionados, a la dispersión simple y a la radiación de frenado se les conoce como *dispersión coherente*. Este proceso no es tan importante para materiales equivalentes a los tejidos o cuestiones biológicas, ya que este fenómeno incluye la interacción de todos los electrones de un átomo y donde los fotones son dispersados por enlaces electrónicos en un proceso en el cual la dispersión atómica ni se excita ni se ioniza. La dispersión coherente solo es importante en altos valores de Z (peso atómico) y para energías de unos pocos KeV [8].

Debemos reconocer que, particularmente con los rayos gamma en ocasiones los fotones no transfieren energía y pueden absorberse en el material sin dañarlo. Sus energías no alcanzan el término de energía transferida. Sin embargo, los procesos importantes donde la energía es transferida a los tejidos o a sistemas equivalentes son los siguientes:

- *Efecto fotoeléctrico.*
- *Efecto Compton.*
- *Creación de pares.*

El *efecto fotoeléctrico* es la ionización producida por radiación electromagnética de baja energía (menor de 0.1 MeV) sobre la materia. Los electrones extraídos preferentemente de orbitales internos, son capaces de absorber toda la energía del fotón incidente por su alta energía de amarre y la energía cinética adquirida. En el proceso desaparece, a este fenómeno se le conoce también como colisión elástica (fig. 10) [26].

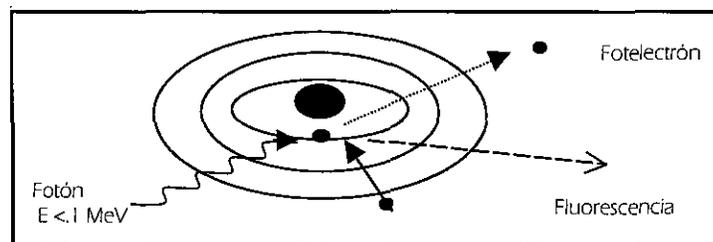


Fig.10. Eventos en el proceso fotoeléctrico; El diagrama indica la incidencia de un fotón provocando la expulsión de un fotoelectrón, seguido por un decaimiento electrónico del orbital M al K, emitiendo a su vez radiación fluorescente.

En el *efecto Compton* la radiación se dispersa con electrones poco ligados, casi libres: parte de la energía de la radiación incide al electrón, el cual es liberado del átomo; el resto de la energía se vuelve a radiar como radiación electromagnética (fig. 11). En conformidad con el esquema ondulatorio, la radiación dispersada tiene menos energía que la radiación incidente (la diferencia se va a la energía cinética del electrón), pero tiene la misma longitud de onda [26].

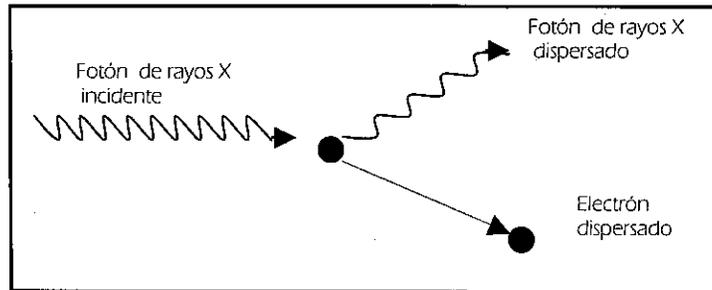


Fig. 11. Esquema que muestra la dispersión Compton, al igual que el efecto fotoeléctrico, su principal efecto es la ionización, solo que a diferencia de este, el fotón no desaparece, sino que en su lugar dispersa un fotón con menor energía.

La *creación de pares* es un mecanismo de energía transferida y ocurre cuando un fotón pasa cerca del núcleo atómico, el fotón es sometido fuertes efectos de campo producidos por el núcleo, donde desaparece como fotón y reaparece como un par de electrones, uno positivo y otro negativo.

Este mecanismo de dispersión es el único donde el núcleo juega un mecanismo relativamente pasivo [8]. El estado del núcleo antes y después de la dispersión es el mismo, excepto por algún cambio en la energía cinética y en el momento. Cabe señalar que en esta dispersión, el núcleo no sufre ningún otro tipo de excitación (fig. 12).

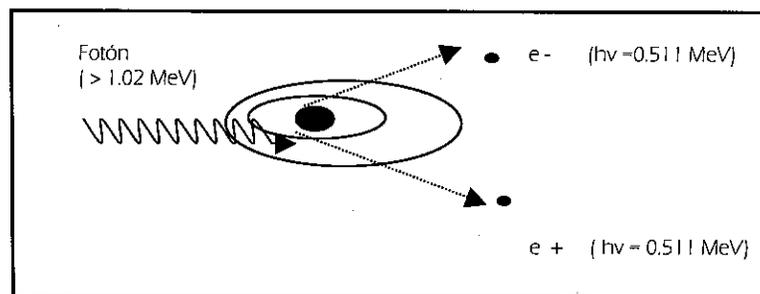


Fig. 12. Esquema que muestra la creación de pares, la cual es provocada por la incidencia de un fotón con una energía mayor a 1.02 MeV y ocurre en la vecindad de un núcleo pesado, donde el momento y la energía se conservan.

Estas últimas tres dispersiones se clasifican como *dispersión incoherente*. En términos físicos, en el proceso de dispersión coherente no hay cambios en relación de fase o longitud de onda, mientras que la dispersión incoherente existe cambios tanto en la fase y en la longitud de onda por la dispersión de un fotón o una partícula [8].

Después de la absorción de energía asociada con un proceso incoherente, se desencadenan otros eventos que provocan daño a los tejidos, algunos de ellos reversibles otros no. Estos procesos se esquematizan en figura 13.

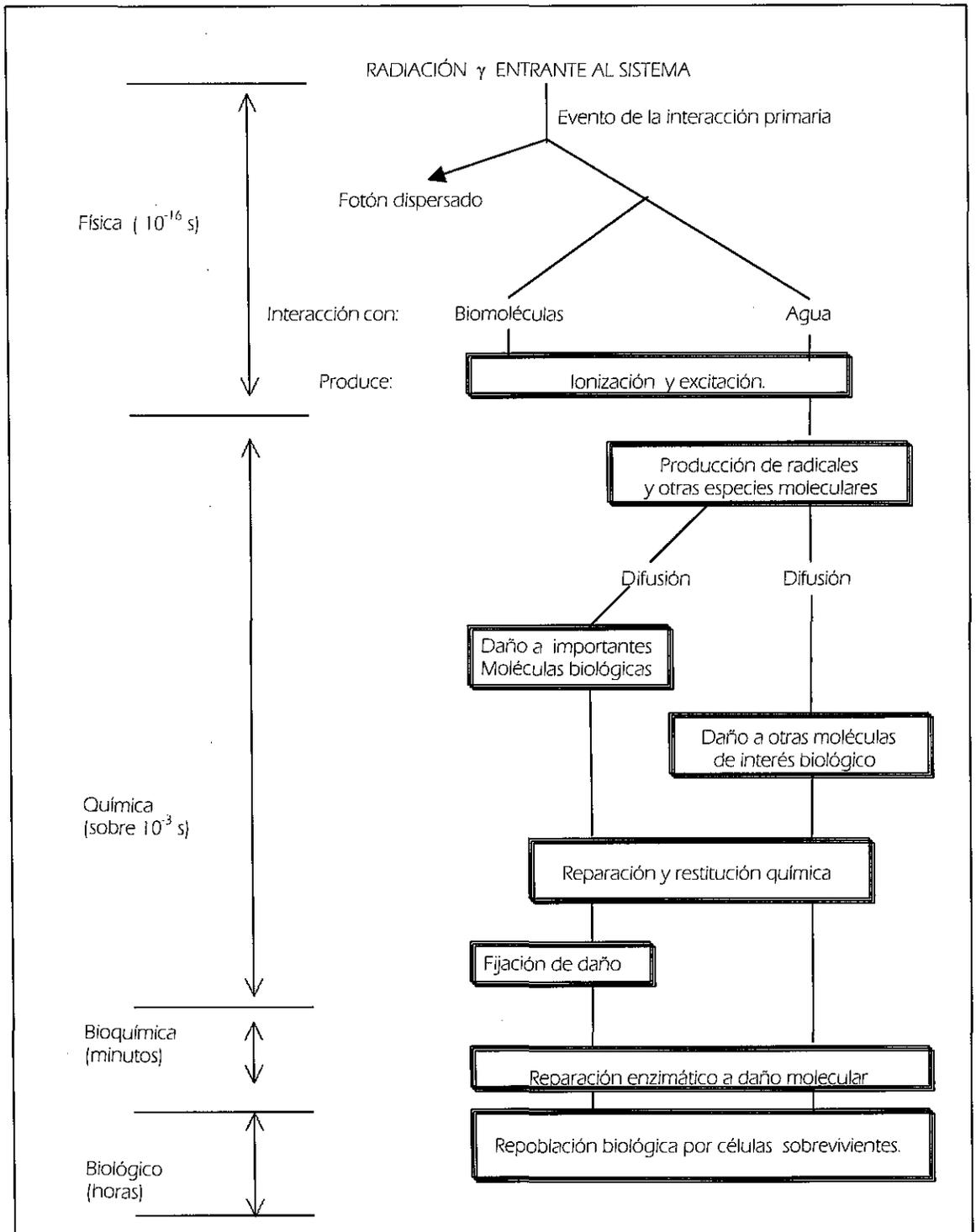


Fig. 13. Diagrama que representa el tiempo en que los procesos de energía transferida dañan o alteran los sistemas tanto físico, químico, bioquímico y biológico, esto después de haber absorbido cualquier tipo de dispersión incoherente. Este tipo de interacción produce una reacción en cadena en todos los sistemas, que finalmente conducen al daño tisular que bien puede tener efectos reversibles y otros totalmente irreversibles[8].

## 7.2 EFECTOS QUÍMICO-BIOLÓGICOS POR RADIACIÓN.

Los efectos químico-biológicos por radiación, se deben a la ionización y excitación de las moléculas, lo que provoca la ruptura de enlaces químicos, esto conduce a una disociación de los compuestos moleculares presentes y produce nuevas especies químicas, que al recombinarse producen compuestos moleculares diferentes a los originalmente presentes.

En virtud de que la mayor parte de los sistemas vivos están constituidos por agua, es en esta molécula el primer lugar donde se lleva a cabo la transferencia de energía inicial. Donde la reacción predominante por los efectos directos de ionización y excitación del agua (radiólisis) es por la liberación de electrones debido a la energía linear transferida [8].

En la figura 14 se muestra la principal reacción química, que ocurre en una escala de tiempo que va de  $10^{-10}$  a  $10^{-12}$  s, el resultado final de la radiación inicial sobre las moléculas de agua, produce lo siguiente: El producto primario es una molécula de agua excitada ( $H_2O^*$ ), a su vez se disocia de forma inmediata produciendo ( $H\bullet$  y  $OH\bullet$ ) y por ionización directa de  $H_2O$ ,  $H_2O^+$  se liberan  $e^-$ .

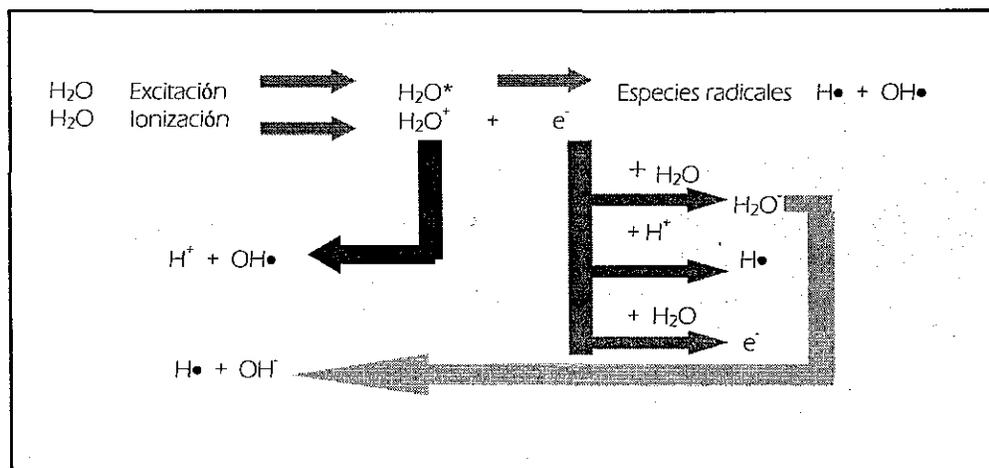


Fig. 14. Esquema que representa a los productos formados como resultado de ionización y excitación en moléculas de agua. Después del evento físico inicial, las moléculas disociadas forman productos primarios, los cuales reaccionan como agua o como iones de hidrógeno.

Algunos ejemplos de radicales químicos adicionales, como productos inmediatos de la combinación son los siguientes: El agua ionizada disocia a la molécula como  $H^+$  y  $OH\bullet$ . Los electrones libres interactúan con el agua y producen  $H_2O\bullet$  lo que provoca la disociación de  $H\bullet$  y  $OH\bullet$ , o producen agua con  $e^-$ , y iones de hidrógeno ( $H\bullet$ ).

No obstante, existen otros fenómenos conocidos como recombinación de productos primarios que ocurren mientras las especies reactivas aun se encuentran muy cerca de otras, donde se transforma su energía química a energía térmica. Los radicales, como pares iónicos pueden recombinarse [8].

## 7.2.1 ACCIÓN DIRECTA E INDIRECTA

Hasta ahora, se ha hecho énfasis en las alteraciones químicas provocadas por la radiación, que a su vez pueden relacionarse con posibles efectos en sistemas biológicos, esto en adición a la reactividad producida por la radiólisis del agua en contacto con Biomoléculas. Sin embargo, es posible que alta energía cinética se deposite directamente en moléculas de gran importancia biológica.

En este caso, las primeras reacciones fisicoquímicas, toman lugar en moléculas importantes como son las proteínas y ácidos nucleicos, el resultado puede ser la ionización y/o excitación en los átomos de estas moléculas. Estos radicales pueden experimentar reacciones similares a las ocurridas en la radiólisis del agua, además, de sus consecuencias químicas de recombinación [8].

Existen dos clases generales de efectos causados por la interacción de radiación, los cuales se identifican como *Acción Directa* y *Acción Indirecta*.

La *Acción Directa* es el proceso donde la energía se deposita directamente en una biomolécula blanco, esto sin la intervención de especies de radicales libres derivadas de la radiólisis del agua. El efecto dosis-respuesta generalmente es una relación lineal, donde la ionización y excitación directa a las moléculas, provocará una disminución de actividad biológica.

Experimentos que aplicaron acción directa en moléculas blanco en ausencia de agua, demostraron que existe una gran diferencia de las moléculas que son irradiadas en soluciones acuosas. La acción indirecta es producto de la radiólisis del agua que predomina para radiaciones de baja energía. No obstante, la acción directa siempre desempeñara el mismo papel en la inactivación del blanco aún cuando éste se encuentre en un medio acuoso [8].

La *Acción Indirecta* viene como resultado de los productos de la radiólisis del agua y se define explícitamente como la interacción de las moléculas de soluto y la reactividad de las especies de las moléculas de solventes, formadas por la acción directa de la radiación en el solvente. En virtud de que el agua es el principal solvente en los sistemas vivos, la acción indirecta, dará como resultado especies reactivas formadas con moléculas de agua. Por ejemplo, daño por radiólisis del agua del radical hidroxilo ( $\text{OH}\bullet$ ), el cual predomina en las reacciones con el ADN.

Cabe señalar, que la restauración de las moléculas a las condiciones normales es a través de tres mecanismos:

- 1) La *Recombinación*, que es la simple unión de pares iónicos o de radicales para formar la molécula de la cual se originaron, y ocurre en cada evento de irradiación en una escala de tiempo de  $10^{-10}$ s.
- 2) La *Restitución*, que es una restauración química de la molécula alterada a su estado original sin la intervención de un biocatalizador o una enzima y ocurre en cuestión de milisegundos.
- 3) El mecanismo de *Reparación*, ocurre en una escala de tiempo mucho mayor, donde el proceso de reparación puede ser de minutos a horas [8].

## 7.2.2 CONFIGURACIÓN Y PAPEL DEL ADN.

Cada molécula de ADN está constituida por dos cadenas formadas por un elevado número de compuestos químicos llamados nucleótidos. Estas cadenas forman una especie de escalera en espiral que se conoce como doble hélice.

Cada nucleótido está formado por tres unidades: una molécula de azúcar llamada desoxirribosa, un grupo fosfato y uno de cuatro posibles compuestos nitrogenados llamados bases: adenina (A), guanina (G), timina (T) y citosina (C). La molécula de desoxirribosa ocupa el centro del nucleótido y está franqueada por un grupo fosfato a un lado y una base al otro [27].

El grupo fosfato está a su vez unido a la desoxirribosa del nucleótido adyacente de la cadena: Estas subunidades enlazadas desoxirribosa-fosfato forman los lados de la escalera, las bases están enfrentadas por parejas, dirigidas hacia el interior y formando los travesaños (fig.16).

Los nucleótidos de cada una de las dos cadenas que forman al ADN establecen una asociación específica con lo correspondiente a la otra cadena. Debido a la afinidad química entre las bases, los nucleótidos que contienen adenina se acoplan siempre con los que contienen timina y los que contienen citosina con los que contienen guanina. Las bases complementarias se unen entre sí por enlaces químicos débiles llamados puentes de hidrógeno [28].

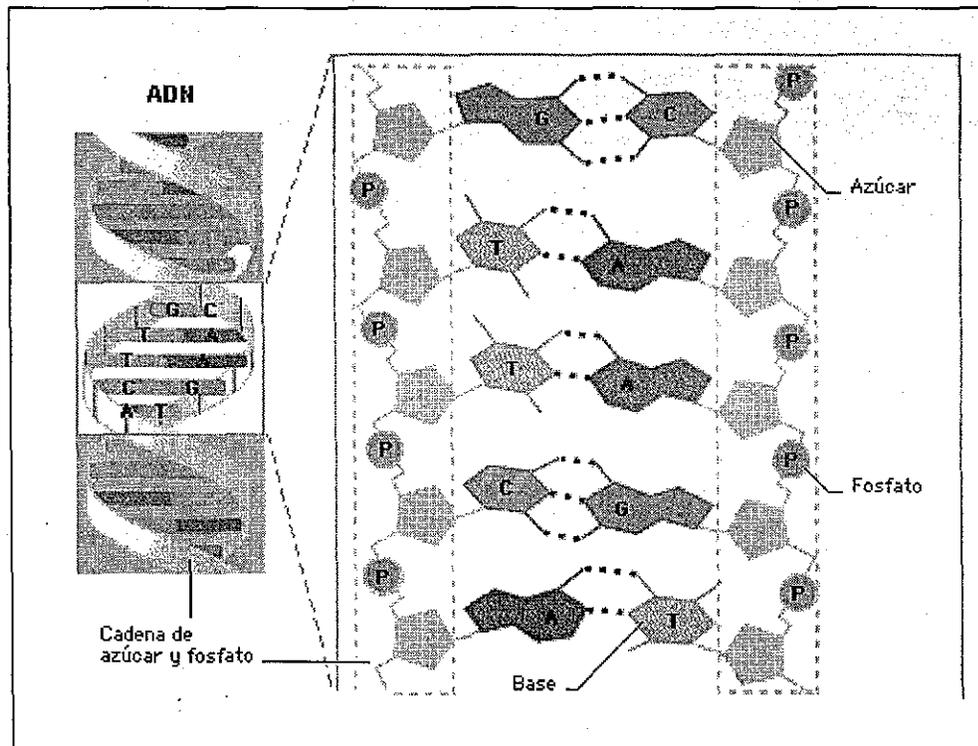


Fig.16. Esquema de la molécula de ADN, tiene la estructura de una escalera formada por azúcares, fosfatos y cuatro bases nucleotídicas. El código genético queda determinado por el orden de estas bases y cada gen tiene una secuencia única de pares de bases [7].

Una célula humana comprende casi 6000 millones de pares de bases de ADN divididas entre 46 cromosomas. Cada cromosoma contiene una sola molécula continua de ADN. Además, los cromosomas contienen fibras de una sustancia conocida como cromatina, compuesta de ADN y proteínas [27].

Las proteínas de la cromatina se dividen en dos principales grupos: Las *histonas* (conjunto de proteínas básicas pequeñas), y las *Proteínas cromosómicas no histonas*, (incluyen numerosas proteínas reguladoras enzimáticas de estructura muy diversa).

Existen subunidades repetitivas de ADN e histonas conocidas como *Nucleosomas*, los cuales son el menor nivel de organización de los cromosomas. Cada nucleosoma contiene una partícula central, consta de 146 pares de bases de ADN enrolladas casi dos veces alrededor de un complejo cuneiforme de ocho moléculas de histona. El complejo central de la histona consta, de dos moléculas de cada una de las siguientes histonas H2A, H2B, H3 y H4. Una molécula de ADN enrollada alrededor de las partículas centrales de un nucleosomas de 10 nm de diámetro es el nivel mas bajo de organización de la cromatina.

Se cree que el siguiente nivel de empaquetamiento de las moléculas de ADN dentro del núcleo ocurre cuando los filamentos de cromatina de 30 nm aproximadamente, se organizan en una serie de asas amplias súper enrolladas. Se estima que cada asa contiene de 10 a 150 Kb de ADN y que esta unida en su base a proteínas específicas, incluyendo una topoisomerasa tipo II, que presumiblemente regula el grado de súper enrollamiento del asa de ADN [27].

### 7.2.3 REACCION CON EL ADN.

Como resultado de la interacción de los productos radiolíticos del agua, los fenómenos ya mencionados son capaces de ocurrir en el ADN, ya que el ADN se enlaza con una gran cantidad de agua (casi seis moléculas de agua por par de bases) y donde los daños a la molécula dependen del punto donde ocurre la reactividad en la estructura nucleotídica. A continuación se describen brevemente algunos fenómenos, dependiendo el punto de reacción [8]:

- Grupos funcionales en bases o azúcares pueden alterarse irreversiblemente lo que provoca la presencia de un nucleótido incorrecto.
- El daño a bases puricas o pirimidicas pueden ser tan extensos que pueden causarles una pérdida en la cadena de ADN. Como resultado se obtendrían secuencias apuricas o apirimidicas en la molécula de ADN.
- Los efectos de los radicales forman un sitio base que es transferido a la estructura de azúcar-fosfato, provocando la pérdida de la base y rompimiento de cadena.
- El daño a la estructura desoxirribosa- fosfato puede cortar la estructura y concluir en un rompimiento en una hebra sencilla, este importante daño se clasifica como rompimiento de hebra sencilla (SSB). Este corte es fácil y rápidamente reparado por procesos enzimáticos intracelulares.
- El daño a la estructura desoxirribosa - fosfato en dos o mas regiones cercanas, pueden provocar el corte de la moléculas, y este daño es clasificado como rompimiento de doble hebra (DSB).

De los mecanismos mencionados, el daño en la estructura azúcar-fosfato en la molécula de ADN, presenta una gran importancia. El daño en estas bases, generalmente no cortan las hebras y las enzimas reparan el daño reemplazando a las bases dañadas de manera eficiente y rápida [29].

#### 7.2.4 ESCISION DE LA CADENA DE ADN.

La escisión de la cadena o de una hebra de la molécula de ADN, no es un evento letal para la célula. Los procesos de reparación son eficientes, generalmente, los rompimientos de las hebras sencillas, son eventos comunes en las células, y su restauración es constante y eficiente. En cuanto a los efectos por radiación, es definitivo que el daño SSB provoca una pérdida de funciones celulares. Sin embargo, el daño DSB, es de mayores consecuencias para las funciones celulares [30].

La restauración adecuada al daño no es tan sencilla y reparación de DSB puede provocar errores que potencialmente produzcan una mutación en el genoma y/o pérdida de la capacidad reproductiva debido a que no tienen una hebra molde para reparar el daño[8].

El doble rompimiento puede ser resultado de una escisión simultánea de dos hebras. Se estima que rangos de 6 a 10 pares de bases para una máxima separación de dos SSB, las cuales pueden provocar una DSB. Para un entendimiento sencillo de lo que puede provocar un DSB, la figura 15 muestra los mecanismos de escisión.

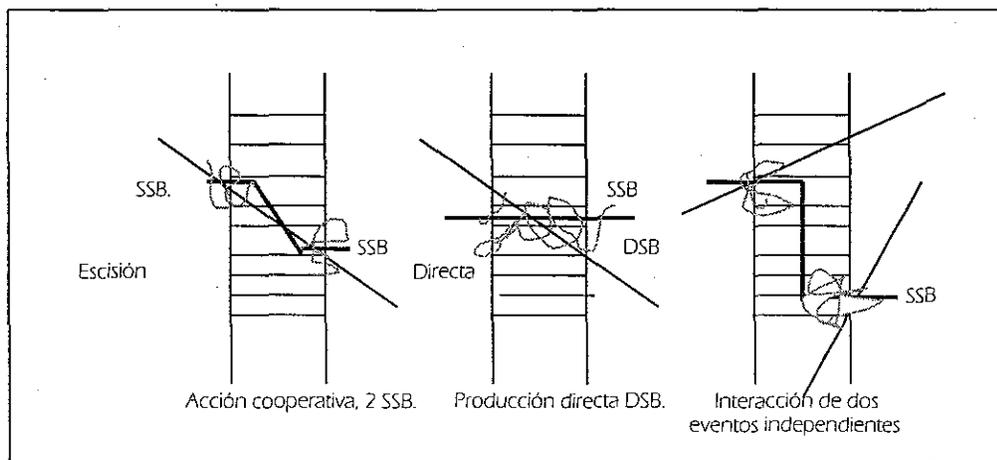


Fig. 15. Esquema que muestra los mecanismos de escisión DSB que pueden ser causadas en la molécula de ADN. Las líneas rectas (rojas) representan las trayectorias de los electrones, Las líneas irregulares (verdes) representan las trayectorias de difusión, producto de la radiólisis del agua que son producidos en esa zona [5].

Los procesos mencionados son el resultado de la acción directa, por el paso de alta energía cinética electrónica, que provoca productos de radiólisis. Estos procesos también ocurren por acción indirecta, con una apropiada distribución de especies moleculares de la radiólisis del agua, solo que con la reacción de la energía transferida en las inmediaciones de la estructura del ADN [8].

## 7.2.5 MECANISMOS DE REPARACION DEL ADN

La vida sobre la tierra esta sujeta a muchas fuerzas destructivas que se originan en los medios internos y externos del organismo. En todas las moléculas dentro de la célula el ADN se encuentra en las condiciones más delicadas. Por un lado es indispensable que la información genética permanezca prácticamente invariable conforme pasa de una célula a otra. Por otra parte el ADN, es una de las moléculas de la célula más susceptible a daño ambiental [31].

Las células cuentan con diversos sistemas de reparación. La reparación en pocas ocasiones implica solo la remoción del cambio, por lo general comprende la remoción de un segmento de ADN que contiene el daño y el hueco se llena mediante resíntesis. Las células humanas cuentan con al menos cinco tipos de mecanismos de reparación para corregir el daño de que en grado variable ocurre en el ADN [11].

Los sistemas de reparación controlan la integridad del ADN dentro del ciclo celular, permitiendo la sobrevivencia de la célula. Su eficacia en la corrección depende de la capacidad para reconocer, remover y reemplazar los segmentos dañados del ADN [32]. Estos sistemas de reparación son los siguientes:

*Reparación directa* como su nombre lo indica, actúa de modo directo en los nucleótidos dañados, convirtiendo cada uno de ellos a su estructura original; pocas formas de daño pueden repararse sin la excisión de nucleótidos, entre esta se encuentra la corrección de roturas de enlaces fosfodiéster en una sola cadena o SSB, las cuales repara un ADN ligasa cuando la rotura no ha dañado los grupos 5' fosfato y 3' OH de los nucleótidos a cada lado del corte [33]. En humanos los daños de este tipo son provocados por radiaciones ionizantes y son reparados por la ligasa III  $\alpha$  [32].

*Reparación por excisión* permite que sean extraídas las áreas dañadas del ADN y nuevas secuencias sean resíntetizadas en la brecha resultante, involucra varias enzimas, las que permiten el reconocimiento de los sitios dañados, remoción de las bases por nucleasas, reemplazo de las bases por polimerasas y reunión de los extremos libres por ligasas. En este sistema es donde se reparan los entrecruzamientos del ADN, también en este grupo se encuentra el mecanismo que reconoce lesiones que alteran la estructura tridimensional del ADN [33].

Como ejemplos de este sistema están: la enzima transferasa de grupos alquilo que elimina los grupos alquilo añadidos por la guanina; las llamadas endonucleasas AP (apuricas y apirimidicas), que son las encargadas de reparar los sitios que quedan después de la pérdida espontánea de residuos de purina o pirimidina, éstas introducen hendiduras en la cadena sencilla del ADN promoviendo un proceso de reparación por escisión mediado por una exonucleasa, la polimerasa I y una ligasa [34].

También aquí se encuentran las glucosidasas de ADN, estas enzimas rompen los enlaces N-Glucosídicos, liberando la base alterada y originando un sitio apurínico, que posteriormente será reparado por una polimerasa y una ligasa [34].

La reparación de las alteraciones en la estructura de la doble hélice se lleva a cabo mediante un corte endonucleotídico que incluya el área dañada, eliminando un fragmento de cadena sencilla, que posteriormente es reemplazado por síntesis de ADN mediada por polimerasa I y ligasa [33].

## 7.2.5 MECANISMOS DE REPARACION DEL ADN

La vida sobre la tierra esta sujeta a muchas fuerzas destructivas que se originan en los medios internos y externos del organismo. En todas las moléculas dentro de la célula el ADN se encuentra en las condiciones más delicadas. Por un lado es indispensable que la información genética permanezca prácticamente invariable conforme pasa de una célula a otra. Por otra parte el ADN, es una de las moléculas de la célula más susceptible a daño ambiental [31].

Las células cuentan con diversos sistemas de reparación. La reparación en pocas ocasiones implica solo la remoción del cambio, por lo general comprende la remoción de un segmento de ADN que contiene el daño y el hueco se llena mediante resíntesis. Las células humanas cuentan con al menos cinco tipos de mecanismos de reparación para corregir el daño de que en grado variable ocurre en el ADN [11].

Los sistemas de reparación controlan la integridad del ADN dentro del ciclo celular, permitiendo la sobrevivencia de la célula. Su eficacia en la corrección depende de la capacidad para reconocer, remover y reemplazar los segmentos dañados del ADN [32]. Estos sistemas de reparación son los siguientes:

*Reparación directa* como su nombre lo indica, actúa de modo directo en los nucleótidos dañados, convirtiendo cada uno de ellos a su estructura original; pocas formas de daño pueden repararse sin la excisión de nucleótidos, entre esta se encuentra la corrección de roturas de enlaces fosfodiéster en una sola cadena o SSB, las cuales repara un ADN ligasa cuando la rotura no ha dañado los grupos 5' fosfato y 3' OH de los nucleótidos a cada lado del corte [33]. En humanos los daños de este tipo son provocados por radiaciones ionizantes y son reparados por la ligasa III  $\alpha$  [32].

*Reparación por excisión* permite que sean extraídas las áreas dañadas del ADN y nuevas secuencias sean resíntetizadas en la brecha resultante, involucra varias enzimas, las que permiten el reconocimiento de los sitios dañados, remoción de las bases por nucleasas, reemplazo de las bases por polimerasas y reunión de los extremos libres por ligasas. En este sistema es donde se reparan los entrecruzamientos del ADN, también en este grupo se encuentra el mecanismo que reconoce lesiones que alteran la estructura tridimensional del ADN [33].

Como ejemplos de este sistema están: la enzima transferasa de grupos alquilo que elimina los grupos alquilo añadidos por la guanina; las llamadas endonucleasas AP (apuricas y apirimidicas), que son las encargadas de reparar los sitios que quedan después de la pérdida espontánea de residuos de purina o pirimidina, éstas introducen hendiduras en la cadena sencilla del ADN promoviendo un proceso de reparación por escisión mediado por una exonucleasa, la polimerasa I y una ligasa [34].

También aquí se encuentran las glucosidasas de ADN, estas enzimas rompen los enlaces N-Glucosídicos, liberando la base alterada y originando un sitio apurínico, que posteriormente será reparado por una polimerasa y una ligasa [34].

La reparación de las alteraciones en la estructura de la doble hélice se lleva a cabo mediante un corte endonucleotídico que incluya el área dañada, eliminando un fragmento de cadena sencilla, que posteriormente es reemplazado por síntesis de ADN mediada por polimerasa I y ligasa [33].

*Reparación postreplicativa*, solamente ocurre durante la replicación del ADN, también es denominado sistema de reparación de apareamientos erróneos. Reconoce los apareamientos erróneos llevados a cabo durante la replicación y reconociendo las bases mal apareadas tiene la capacidad de escindirlas y llevar a cabo la reparación determinando cual de las dos bases mal apareadas es la incorrecta [32].

*Reparación de bases mal apareadas* actúa cuando los sistemas anteriores reconocen el daño producido al ADN pero no pueden actuar sobre bases mal apareadas ocasionadas por errores en la replicación. Esto es, simplemente A, C, G o T que han sido incorporados en posiciones incorrectas. La tasa de error de la ADN polimerasa, incluyendo la capacidad de edición, es del orden de un error por cada  $10^9$  a  $10^{11}$  nucleótidos incorporados [32].

El sistema de reparación no reconoce por tanto, las bases mal incorporadas, sino que identifica la ausencia de apareamiento entre la cadena molde y la cadena recién sintetizada [35].

*La Fotoreactivación es el mecanismo* específico para la reparación de daño inducido por luz ultravioleta, la cual genera foto-dímeros de pirimidina que son reparados por una enzima foto reactivante que es la encargada de unirse al dímero y escindirlo. Esta enzima es activada por la luz UV por lo que este mecanismo de reparación solo se lleva a cabo solo en presencia de la luz [34].

*El sistema SOS* es inducido por daño grave en el ADN, el cual no puede ser reparado por los mecanismos anteriores. Este mecanismo es capaz de sintetizar ADN donde se hayan perdido grandes segmentos del mismo; agregando bases para permitir que se restablezca la doble hélice y que puedan actuar los otros sistemas para el reconocimiento y reparación final de los errores [34].

Los sistemas de reparación interactúan conjuntamente siendo acción global, es decir, se utiliza el sistema adecuado para cada lesión, permitiendo la continuidad de las funciones celulares, o bien que se complete el ciclo celular manteniendo intacto al ADN para la siguiente generación [32].

Existe otro de mecanismo de no reparación conocido como *Recombinación*, el cual es un proceso que da origen al entrecruzamiento e intercambio de ADN que ocurre entre cromosomas homólogos durante la meiosis. Sin recombinación, los genomas serían estructuras relativamente estables, sufriendo muy pocos cambios [35].

Durante mucho tiempo, la acumulación gradual de mutaciones resultaría en alteraciones a escala mínima en la secuencia de nucleótidos del genoma; no obstante, una reestructuración más amplia, la cual es función de la recombinación, no ocurriría y el potencial evolutivo del genoma estaría muy restringido [32,36].

Si bien, existen diversos sistemas de reparación a nivel molecular, frecuentemente el reemplazo normal de las células es drásticamente inhibido por la incapacidad de estos sistemas, después de haber estado a altas dosis radiactivas. Cabe señalar que la sensibilidad celular varía dependiendo del órgano, por ejemplo: el cerebro y los músculos son ligeramente sensibles; el hígado y riñón lo son moderadamente; sin embargo, los altamente sensibles son la médula ósea, glándulas linfáticas, intestinos, genitales, cabello (foliculos) y la dermis. En el anexo 2, se enlista un resumen de los efectos corporales en dosis radiactivas agudas [25].

### 7.3 FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD Y BIOMARCADORES.

Algunos tipos de cáncer tienen un componente hereditario y aunque constituyen una pequeña proporción, se estima que 85% de los cánceres son inducidos por factores ambientales [37]. En este aspecto, los investigadores clasifican una sustancia como agente carcinogénico (químico, biológico y/o físico) cuando al afectar a una población, cuyos organismos no han sido expuestos a ella con anterioridad, hay un aumento estadísticamente significativo de alguna forma de neoplasia [38].

Algunos de los factores conocidos que influyen en la respuesta individual al medio ambiente son; predisposición genética, étnica, edad, sexo, salud, nutrición, factores reproductivos y estilos de vida [39]. No obstante, con el paso del tiempo se han buscado marcadores que provean bases para valorar la interacción de futuras enfermedades.

Existen biomarcadores a diferentes niveles, como por ejemplo de exposición, absorción, metabolismo, distribución, interacción crítica del tejido, cambios genéticos y finalmente, de enfermedades, por lo tanto, con el uso de esos marcadores se han valorado mejor los riesgos a la exposición ambiental [5]. La biología molecular ha provisto de poderosas herramientas para evaluar los mecanismos causantes del cáncer, así como el potencial, mejor definido como susceptibilidad individual. Hasta la fecha se han identificado básicamente cuatro grupos de marcadores:

- *Biomarcadores de susceptibilidad*, entre estos se consideran a los genes metabólicos y sistemas de reparación: Ambos marcadores miden variabilidad interindividual en la respuesta a un nivel dado de exposición [40].
- *Biomarcadores de dosis/exposición*, los cuales detectan compuestos genotóxicos a cualquier nivel de penetración en el organismo induciendo respuestas genotóxicas reversibles. Estos marcadores miden metabolitos de los agentes en cuestión, tanto en sangre, orina, heces, así como diferentes tejidos.
- *Mutaciones de genes informadores* (genes que especifican un producto que se puede cuantificar fácilmente y se puede emplear para analizar el funcionamiento de un promotor) [41].
- *Biomarcadores de efecto*, este cuarto grupo, independientemente a los anteriores, mide el daño genético procesado, éstos incluyen marcadores en el nivel cromosómico (aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátides hermanas, micronúcleos, o bien cambios específicos que inducen cáncer y mas recientemente, determinaciones electroforéticas de células únicas de fragmentos de cromosomas, así como marcadores de nivel genómico. Con estos tipos de marcadores se ha vuelto posible, en la última década, medir directamente y caracterizar mutaciones somáticas a nivel genómico *in vivo* en humanos [42].

#### 7.3.1 ABERRACIONES CROMOSOMICAS.

Las aberraciones cromosómicas (AC), así como las mutaciones en el ADN pueden ocurrir de forma espontánea o bien ser inducidas, incrementándose, entre otros factores, por la edad y por la exposición a agentes mutágenos [13]. Estas alteraciones pueden ser de dos clases; numéricas y estructurales. Las alteraciones numéricas indican cambios ya sea en múltiplos del número haploide, ausencia y exceso de algún o algunos cromosomas. Las alteraciones estructurales son debidas a la deficiente reparación o la reunión ilegítima de terminales rotas entre dos diferentes cromosomas (intercambio) o dentro de un cromosoma (intracambios) [32,43].

Si bien, se ha mencionado mecanismos de reparación que tratan de subsanar daños, sin embargo, cuando estos daños son graves o los mecanismos de reparación pierden su eficiencia, se producen alteraciones estructurales, las cuales se pueden clasificar para estudiar el efecto de las sustancias mutagénicas valorando su presencia [32.44]. Una de las teorías más discutidas respecto al mecanismo en que la radiación induce daño en el esqueleto del cromosoma presenta las siguientes alternativas:

- El rompimiento puede ser restituido por lo que la configuración del cromosoma se restablece (más del 90 % de todos los rompimientos son restablecidos).
- Si un segundo rompimiento ocurre cerca en cuanto espacio y tiempo, los extremos pueden unirse anómalamente y formar aberraciones de tipo intercambio.
- Si el rompimiento queda abierto y puede permanecer así, producirá una lesión terminal o deleción. (Aparentemente existe una relación lineal con respecto a efecto de dosis y delaciones terminales, en cuanto a los intercambios al menos para radiación baja tipo LET, en una forma lineal cuadrática. Para radiación alta se observan todo tipo de aberraciones).

Otra teoría de Intercambios fue originalmente desarrollada para aberraciones cromatídicas, la cual propone que la radiación ionizante produce lesiones inestables cuando dos de estas lesiones coinciden en tiempo y espacio y es ahí donde puede iniciar el intercambio [32.45].

Cuando un cromosoma pierde un segmento se dice que es una deleción o pérdida de material genético [46.47]. La deleción puede ser terminal o intercalar; si la deleción ocurre en dos extremos del cromosoma; la porción que porta el centrómero y sus extremos rotos y forma un cromosoma en anillo, ver figura 17.

Al intercambio de segmentos entre cromosomas se le conoce como *traslocación* (fig.17) la cual puede ser recíproca o no, e implicar cromosomas homólogos o no homólogos. Un tipo especial de traslocación es la fusión céntrica que ocurre entre los cromosomas acrocéntricos, la cual ha desempeñado una importante función en la evolución al permitir la reducción del número cromosómico en las especies [32].

El *isocromosoma* se forma cuando el centrómero (fig.17), en vez de dividirse de manera longitudinal, lo hace de modo transversal, pudiéndose formar un isocromosomas de brazos largos o un isocromosoma de brazos cortos.

Se dice que hay *duplicación* cuando un segmento o una misma secuencia de genes aparecen dobles en el mismo cromosoma (fig.17). Por otra parte se produce una *inversión* cuando un segmento cromosómico rota 180° sobre sí mismo y se coloca en el cromosoma en forma invertida, quedando la secuencia de genes alterada. La inversión puede ser paracéntrica si el segmento invertido no incluye el centrómero o pericéntrica si el centrómero queda incluido [32.48].

El *anillo* es otra aberración estructural (fig.17), se forma cuando el cromosoma presenta simultáneamente rompimiento en el brazo corto y el brazo largo, de tal manera que los extremos se separan y la porción que lleva el centrómero y sus extremos rotos originando un cromosoma circular [32.49].



### 7.3.2. LOS MICRONÚCLEOS

Los micronúcleos aparecen en una célula interfásica como una pequeña masa de cromatina fuera del núcleo principal, compuesta por cromosomas completos (aneuploidógeno) o por fragmentos que se rezagaron durante la anafase por presentar daño o la ausencia de los organelos necesarios para pegarse al huso [12,50,51] y no son incluidos en el núcleo principal durante la telofase por lo que la expresión del micronúcleo requiere que la célula se divida, apareciendo en una o ambas células hijas (fig 18).

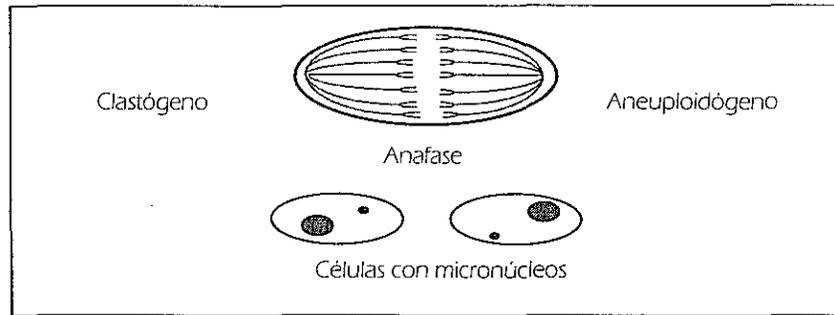


Fig. 18. Dibujo que representa la formación de micronúcleos.

Los MN de células expuestas a radiación están formados principalmente por fragmentos acéntricos (FA). Dichos fragmentos mientras estén incluidos en el núcleo se duplicarán con el resto en fase S, conforme aumenta el número de FA por célula también se incrementa la probabilidad de que un MN pueda contener varios FA, ya que las corrientes citoplásmicas alrededor del huso pueden coleccionar a los FA. Si el FA es producido antes de la replicación este será tipo-cromosoma y si es producido post replicación será como una cromátida simple [52].

Una vez formado su duración dependerá de la capacidad de dividirse de la célula, todas las células que porten un FA su esperanza de vida se reduce. Las células con MN pronto son reemplazadas por células normales con mejor viabilidad por lo que el efecto se diluye [51]. Por lo tanto, las frecuencias observadas de MN son el resultado del número acumulativo de MN derivados de todas las divisiones antecedentes al tiempo de muestra [53].

La prueba de MN *in vivo*, permite detectar el efecto de agentes mutagénicos [39], detecta tanto agentes clastogénicos (que fracturan cromosomas), como aneuploidogénos (que afectan el uso mitótico), pudiéndose diferenciar unos de otros por el tamaño de los MN [54] o por la presencia del centrómero o cinetocoro.

Esta técnica es ampliamente aceptada y es posible aplicarla en humanos, animales de laboratorio, fauna silvestre y en una gran variedad de tejidos como: eritrocitos policromáticos de médula ósea, sangre periférica, linfocitos, hepatocitos, células germinales, muda de urodelos y en células de la mucosa bucal [55].

En estas últimas, la presencia de MN se asocia a alteraciones citológicas en individuos que fuman tabaco, que consumen alcohol, comida condimentada o que han sido tratados con quimioterapia antineoplásica, así como en personas expuestas a radiaciones ionizantes [56]. Los MN en mucosa bucal reflejan el efecto genotóxico ocurrido en las células de la capa basal, de aquí migran a la capa epitelial y son detectados en las células exfoliadas en el transcurso de tres semanas [57] (fig. 19).

Es una prueba que tiene ventajas sobre la prueba en linfocitos, ya que puede utilizarse directamente, sin la elaboración de cultivos. La frecuencia de células multinucleadas en células exfoliadas de mucosa bucal es mas alta en leucoplaquia oral que en mucosa oral normal [56].

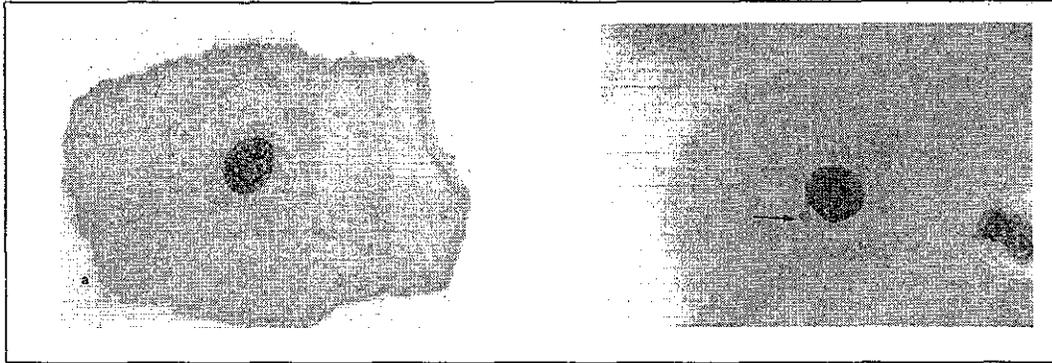


Fig. 19. Fotografías que caracterizan a una célula de mucosa bucal en condiciones (izquierda) y donde se observa una célula de mucosa bucal presentando un Micronúcleo (derecha)[56].

El uso de la prueba de MN en células exfoliadas, da una aproximación para identificar y cuantificar el grado de daño genotóxico en tejidos humanos que son blancos de carcinógenos órgano-específicos que podrían desarrollar cáncer [58]. Esta prueba se ha usado exitosamente para reconocer poblaciones con alto riesgo de cáncer en cavidad oral así como para identificar efectos sinérgicos de exposiciones a cancerígenos [59]. Ya que esta prueba refleja el daño al ADN, al suprimir la exposición al genotóxico, disminuye la frecuencia del MN y finalmente como consecuencia lleva a la disminución de la incidencia de cáncer [56].

Son reconocidos tres mecanismos por los cuales se forman MN:

- Pérdida mitótica de fragmentos acéntricos, considerado el mecanismo clásico.
- Pérdida mitótica de cromosomas completos.
- Apoptosis, fenómeno fisiológico en donde se desintegra con formación de fragmentos nucleares.

### 7.3.3 ANORMALIDADES NUCLEARES EN MUCOSA BUCAL

En células epiteliales, las alteraciones mas sugestivas en la morfología de las células neoplásicas, se producen en el núcleo [60], donde las modificaciones son el tamaño, densidad y distribución de la cromatina. En virtud de que se han descrito en células epiteliales fenómenos cuyo incremento refleja eventos relacionados con carcinogénesis. Los fenómenos mas comúnmente descritos son los siguientes [56].

La picnosis y la cromatina anormalmente condensada, están relacionadas con la diferenciación y maduración del epitelio, sin embargo, se observa incremento de éstas en respuesta a daño celular (fig.20. a y b). La picnosis, cromatina anormalmente condensada y la cariólisis, acompañadas de queratinización, ocurren como respuesta adaptativa al daño celular. En condiciones normales no existe queratinización en células de la mucosa bucal. (fig.20. a, b y c). En el caso de la picnosis, cromatina anormalmente condensada, cariorrexis y cariólisis, son una evidencias de necrosis celular, ocurren después del daño de agentes que causan perturbaciones graves en el desarrollo celular (fig.20). Por otra parte, la picnosis, cromatina anormalmente condensada, cariorrexis, acompañan al tipo de muerte celular denominado apoptosis.

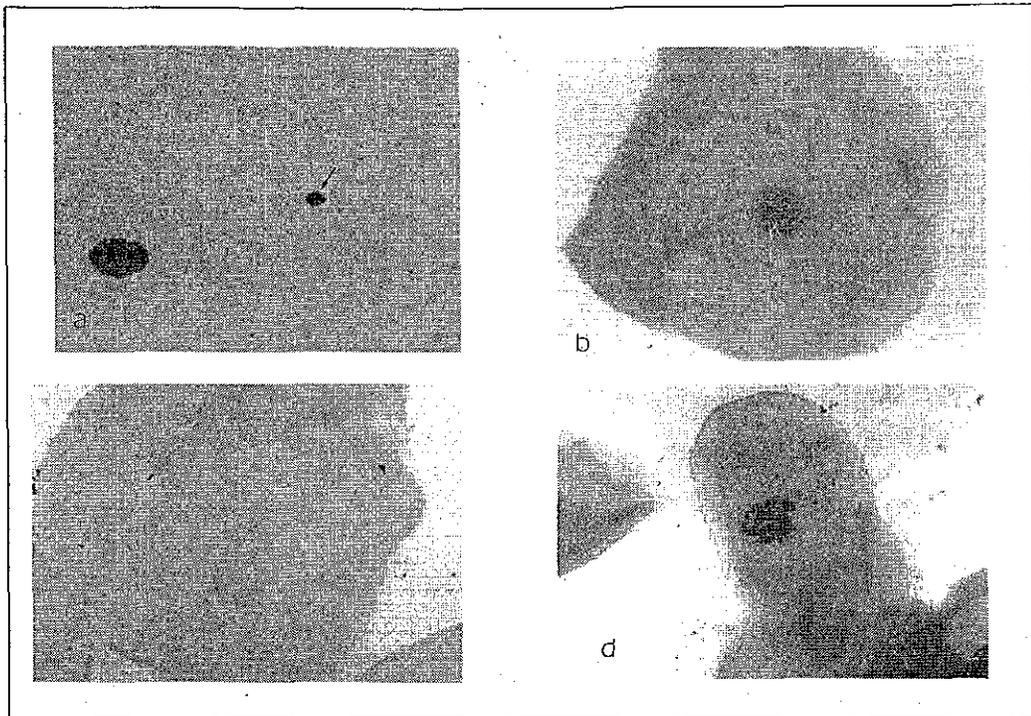


Fig.20. Fotografías donde se observan las distintas alteraciones que corresponden a : a)Piknosis o núcleo pequeño. b)Cromatina anormalmente condensada, la cromatina nuclear se encuentra agregada. c)Kariolisis o disolución nuclear, se observa una imagen fantasmal, Feulgen negativa. d)Kariorraxis o desintegración nuclear, que involucra la pérdida de la integridad nuclear [56].

La Binucleación, es un proceso que tiene lugar en dos etapas, en la primer etapa hay mitosis, que origina dos núcleos pero el citoplasma no se divide, en consecuencia, se forma una célula binucleada. Luego, ambos núcleos en mitosis al mismo tiempo y cuando las membranas nucleares se desintegran simultáneamente, los cromosomas de ambas células quedan en el mismo huso y son arrastradas juntos de nuevo (fig. 21a).

Por otro lado, cuando la división se completa habrá dos células pero cada una tendrá un contenido tetraploide de cromosomas, por que el núcleo original se dividió dos veces (fig. 21b). Por ultimo, el Núcleo lobulado o Broken-egg, su origen y significado aún son desconocidos.

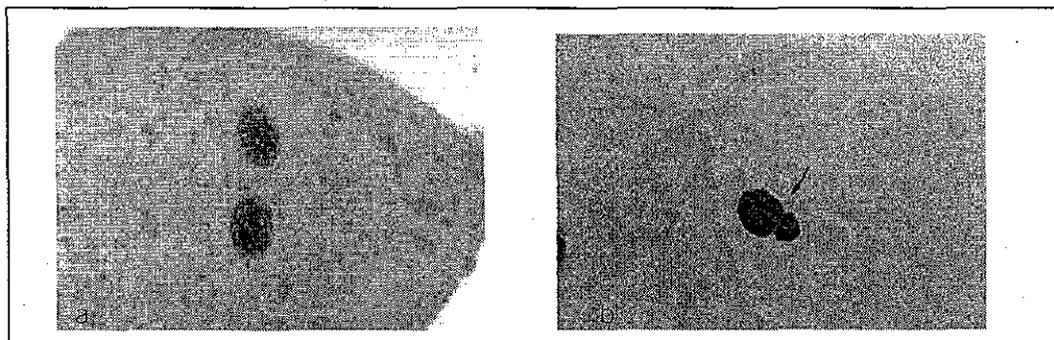


Fig.21. En la fotografía a) se observa una Binucleación o presencia de dos núcleos en una célula y en la fotografía b) se observa un Núcleo lobulado o Broken-egg, el cual muestra una clara constricción[56].

## 7.4 VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA AMBIENTAL

El ambiente humano esta formado por elementos muy básicos como: aire, agua, alimentos, clima y espacio disponible para sus movimientos. En este contexto, se puede mencionar que casi todas las enfermedades se deben a factores ambientales o sufren su insuficiencia. Por lo tanto, para poder establecer programas preventivos, es importante saber como pueden alterar la salud ciertos factores ambientales especificos [61].

En este aspecto, la epidemiología ambiental proporciona una base científica para el estudio y la interpretación de las relaciones entre el ambiente y la salud de los individuos [61]. Sin embargo, es la epidemiología laboral la que estudia específicamente los factores ambientales de los lugares de trabajo (ver mapa conceptual).

### 7.4.1. MAPA CONCEPTUAL

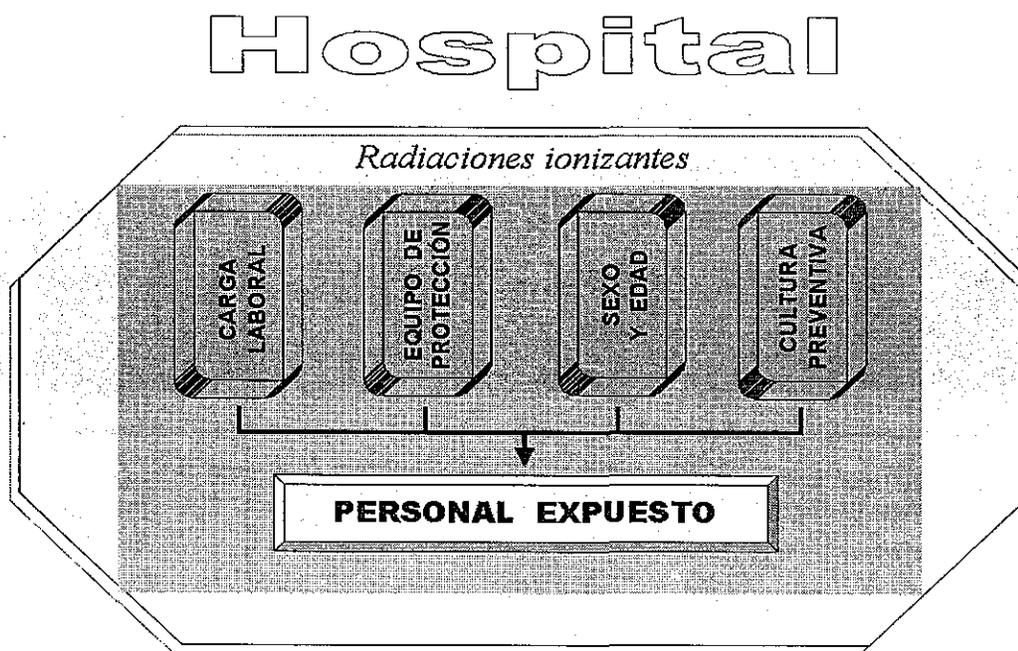


Fig.22 En este esquema se representan los diferentes factores sinérgicos que inciden sobre la vulnerabilidad individual, independientemente de la magnitud y exposición a radiaciones ionizantes del personal que labora en determinadas secciones o servicios nosocomiales.

### 7.4.2. REPRESENTACIÓN DEL PROCESO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

El objetivo básico de la vigilancia epidemiológica, es aprovechar la información en salud para orientar la toma de decisiones y la planificación de estrategias de prevención y control. Si bien la descripción de los patrones de ocurrencia de las enfermedades y la investigación de sus causas permite identificar los grupos más expuestos o susceptibles; se debe estratificar los riesgos y orientar las acciones preventivas y de control de una manera eficaz y eficiente.

En lo particular, cuando la orientación disciplinar se concentra en los aspectos ambientales, se tiene que tomar en cuenta algunos aspectos fundamentales que determinan la evolución de un daño y las consecuencias de un impacto, así mismo, se consideran los siguientes factores:

### *Exposición*

La exposición tiene dos dimensiones, el grado y nivel de duración. En el caso de los factores ambientales que producen efectos agudos de forma mas o menos inmediata una vez iniciada, el nivel que alcanza la exposición es el que determina si se va a producir el efecto [61].

### *Mediciones individuales o de grupo*

Las mediciones individuales de la exposición varían a lo largo del tiempo. Por tanto, la frecuencia de las mediciones y el método utilizado en los estudios epidemiológicos para calcular la exposición o la dosis, requieren una cuidadosa consideración. Esto se debe a que la exposición o la dosis puede variar entre individuos que trabajan en un mismo lugar, ya que existe la posibilidad de encontrar diferentes hábitos de trabajo o por las diferencias en la distribución del contaminante [61].

### *Valoración y gestión del riesgo*

Las consideraciones más importantes para valoración de riesgos, es poseer:

- La definición del riesgo sanitario ambiental.
- El análisis del tipo de efecto nocivo que puede causar.
- La estimación de los niveles reales de exposición de las personas potencialmente afectadas.
- La combinación de las relaciones dosis- efecto, dosis- respuesta y además, de calcular el riesgo probable de efectos nocivos en esa población.

Por otra parte, los pasos más importantes para gestión de riesgo son:

- Calcular el riesgo para la salud y evaluar la estimación correspondiente en relación a un riesgo aceptable predeterminado.
- Reducción de exposición, modificando procesos productivos para eliminar peligrosidad.
- Monitorización de la exposición.

Sin embargo, el desarrollo de la vigilancia epidemiológica como estrategia de intervención, está determinada por el marco conceptual que explique la relación de la salud enfermedad en el ámbito laboral, la percepción sobre el papel que debe asumir el estado y los patrones frente a dicha problemática [62].

Es evidente que también influyen las condiciones que se tienen para la organización, gestión, ejecución y evaluación de la vigilancia epidemiológica, la cual busca:

1. Identificar enfermedades, lesiones y factores de riesgo que representen nuevas oportunidades de prevención.
2. Definir la magnitud y distribución del problema en la fuerza de trabajo.

3. Evaluar tendencias de la magnitud del problema, para por lo menos en principio tener una herramienta evaluadora de las estrategias preventivas.
4. Identificar las ocupaciones, actividades económicas, tipos de industria, que requieran atención especial (capacitación y el reforzamiento de visitas de inspección entre otros).
5. La difusión pública o esfuerzos normativos adicionales que los hagan blanco de esfuerzos adicionales para prevenir nuevos episodios.

La organización de los sistemas de vigilancia epidemiológica en salud de los trabajadores es una obligación irrefutable de las entidades gubernamentales, teniendo como preocupación el empleo de toda la información existente en las instituciones de salud ocupacional y en los servicios de salud [62].

En virtud de que en salud ocupacional, la vigilancia epidemiológica es una estrategia que busca la detección precoz y la prevención de los factores de riesgo para la salud (en grupos de trabajadores mediante la identificación de la magnitud y distribución de los problemas), se debe promover el monitoreo continuo de los programas de intervención. De la misma manera, se requiere el desarrollo de enfoques alternativos que propicien la intervención oportuna de los problemas y mejorar con el aprovechamiento de la información requerida para tal fin.

#### 7.4.3. LA VIGILANCIA CENTINELA

La metodología o vigilancia centinela, permite detectar alteraciones de la salud ocasionados por la exposición a una amplia gama de factores de riesgo presentes en el ámbito laboral, esta metodología supone un complemento de los estudios tradicionales, ya que permite incrementar la eficacia y eficiencia de los estudios epidemiológicos laborales de carácter específico. Además, la identificación de un problema en un centro de trabajo puede servir para sentar las bases del control en todos los centros de trabajo que tengan condiciones similares [62].

Tradicionalmente la vigilancia epidemiológica ocupacional se ha concentrado en el seguimiento a los trabajadores expuestos a factores de riesgo, aplicando exámenes médicos y analizando resultados, lo cual se operativiza en términos de efectos, además propone programas de medicalización y emitir el planteamiento prioritario de la identificación y control de riesgos como alternativa básica, esto para evitar la aparición de efectos y secuelas que en ocasiones son irreversibles [62].

El diagnóstico de los factores de riesgo ambiente-ocupacionales, implica la utilización de un plan que permita el reconocimiento sistemático del lugar de trabajo, la identificación, medición y la evaluación de los mismos. De manera que el panorama de factores de riesgo es una metodología que permite realizar esta actividad como punto de partida para su identificación (incluyendo un reconocimiento inicial de las diferentes áreas de trabajo, la identificación de agentes químicos, físicos y biológicos) y así asociarse con eventos ocupacionales, de evaluación y priorización de las actividades de intervención [62].

La vigilancia debe concentrar toda la atención en el control permanente de las condiciones ambientales, la aparición de un solo caso debe alertar a todo el sistema y dirigir la atención hacia las medidas de control en otros trabajadores que compartan la actividad o puesto de trabajo, ya que pueden estar sometidos al mismo agente de riesgo y por lo tanto pueden beneficiarse de la intervención aún sin tener el problema.

#### 7.4.4. NORMAS FUNDAMENTALES EN EL AMBIENTE LABORAL RADIATIVO

Sin duda alguna una de las normas más importantes que rige a nivel nacional, es la NOM-012-STPS-1999 la cual establece las condiciones de seguridad e higiene que se deben cumplir en los centros de trabajo, para el reconocimiento, evaluación y control de los trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes.

Otra igual de importante es la NOM-017-STPS-1993 la cual consiste en proporcionar al personal ocupacionalmente expuesto, el equipo de protección establecido, capacitarlo en su uso y asegurarse que sea utilizado.

La finalidad de la aplicación de estas normas, es para reducir los *efectos Determinísticos* (Los efectos determinísticos son el resultado de exposiciones en todo el cuerpo o en partes que producen suficiente mortalidad celular para menoscabar la función en el tejido u órgano irradiado) y los *efectos Estocásticos* (Los efectos estocásticos se presentan a largo plazo, después de la exposición a la radiación, no presentan dosis umbral y la probabilidad de que ocurran es proporcional a la dosis absorbida ejemplo de esto es la leucemia, cáncer y lesiones genéticas, las cuales pueden manifestarse tanto en el individuo expuesto como en su descendencia)[20].

Dado que la exposición ocupacional durante el uso de las fuentes radiactivas constituyen un riesgo para la salud, el Reglamento General de Seguridad Radiológica requiere que se practiquen exámenes médicos al personal ocupacionalmente expuesto, como parte del control radiológico operacional basado en la NOM-026-NUCL-1999.

Así, el cumplimiento de este propósito normativo, permite la detección oportuna de alteraciones genéticas derivadas de la exposición laboral al factor de riesgo ambiental referido con anterioridad. Dichas alteraciones pueden detectarse mediante la realización de exámenes sucesivos, con la intención de tener elementos de referencia que permitan apreciar la evolución fisiológica y del impacto genético, además de suministrar información precisa para valorar adecuadamente las exposiciones accidentales.

## 8. MATERIAL Y METODOS

La sede del presente trabajo fue en las instalaciones del Laboratorio de Citogenética, Departamento de Fisiología. CUCS. U de G. Con la participación del laboratorio de Mutagénesis. CIBO. IMSS.

En el proceso socio-institucional por implicaciones socio-laborales fue el siguiente:

- El Hospital Civil de Belén, a través de la Subdirección de Enseñanza e Investigación, autorizó gratamente la realización de esta investigación (ver oficio anexo 3).
- El instituto Jalisciense de Cancerología, mediante su Dirección General, colaboró con su infraestructura y recursos humanos.
- Los servicios invitados a este proyecto fueron: Radiología, Medicina Nuclear y Radioterapia.
- Las pruebas de Biometría Hemática requeridas para este trabajo, corrieron por parte del laboratorio clínico de la Torre de Especialidades del Hospital Civil.

### 8.1 GRUPOS DE ESTUDIO

Se realizó un estudio analítico, en personal ocupacionalmente expuesto (POE) a radiaciones ionizantes pertenecientes al Hospital Civil de Belén. El cual se aplicó en trabajadores que laboraron por lo menos un año de forma continua en los servicios de radiología, medicina nuclear y radioterapia (fig. 23).

Antes de comenzar con la caracterización del universo de trabajo, se socializó con el personal y se les impartió una plática sobre el tema, así mismo, se les aplicó el cuestionario No. 1 (ver anexo 4) para conocer sus datos laborales, se les clasificó en 3 servicios o grupos de estudio y se aplicaron los siguientes criterios:

#### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Trabajadores de planta y eventuales del servicio de radiología, medicina nuclear y radioterapia.
- POE que cuenten con registro de dosis acumulada anual por medio de dosimetría física.

#### CRITERIOS DE NO- INCLUSIÓN

- Aquel que no disponga de datos precisos sobre el tiempo y dosis de exposición.
- Aquellos que hayan tenido un receso laboral dos meses previos a la toma de muestras.
- A trabajadores del área no directamente expuestos a las radiaciones.
- A trabajadores que no acepten involucrarse en este estudio.

#### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- A las muestras que se hayan contaminado, que no respondan correctamente al estímulo mitogénico y que no presenten suficientes metafases.

A cada POE que aceptó participar y que acreditó los criterios de inclusión, se le aplicó además el cuestionario No.2 (anexo 5), donde se recabaron algunos datos epidemiológicos individuales.

Definido el universo de estudio (13 trabajadores) se les designó a 13 controles (personas que no estuvieran expuestas a este tipo de radiaciones), pareados por edad y sexo. De igual manera, a los controles se les pidió contestar el cuestionario No.3 (anexo 6) y posteriormente, tanto a controles como a POE interesados, se les presentó la carta de consentimiento para incorporarlos al estudio (ver carta anexo 7).

## 8.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Se calendarizaron las citas tanto al POE como su control correspondiente el mismo día y hora para tomar las muestras (esto para tener las mismas condiciones de trabajo).

Para las tomas de muestras, se necesitaron 4 ml de sangre en un tubo con EDTA para la técnica de biometría hemática (ver anexo 8), 5 ml de sangre con 0.1 ml de heparina estéril para la técnica de preparación de cromosomas, en este caso la muestra se separó en dos partes y a una de ellas fue expuesta a 1.5 Gy (ver anexo 9). Por último, se obtuvo mucosa mediante un raspado bucal para la técnica de micronúcleos de mucosa bucal (ver anexo 10), todo esto a cada individuo del POE y del grupo control.

En el caso de la técnica de cromosomas, en la muestra No 3 del POE en estado inducido, se vio la necesidad de aplicar el criterio de exclusión.

## 8.3 ANALISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se aplicó la prueba "t-Student" para muestras independientes, para muestras pareadas la prueba de "t-Student" y "Wilcoxon" y la prueba "Chi<sup>2</sup>" para el universo celular total de comparación, todos estos considerando una significancia menor de  $p < 0.05$ , además la prueba ROC para sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas.

## ASPECTO ÉTICO

En este estudio el personal ocupacionalmente expuesto no fue inducido a ningún tipo de riesgo. Las muestras sanguíneas obtenidas del POE y del grupo control fueron sometidas a tratamientos que no afectan la integridad genética de los participantes en el estudio.

## OPERALIZACION DE VARIABLES

<i>Variable:</i>	Daño genético.
<i>Escala de medición:</i>	Nominal cuantitativa.
<i>Tipo de exposición:</i>	Radiación $\alpha$ , $\beta$ , y/o $\gamma$ .
<i>Forma de exposición:</i>	Directa o indirecta.
<i>Tiempo de exposición:</i>	Crónica (mayor a un año).
<i>Variable independiente:</i>	Radiaciones ionizantes (Dosis absorbidas y acumuladas).
<i>Variable dependiente:</i>	Presencia de micronúcleos y aberraciones cromosómicas.

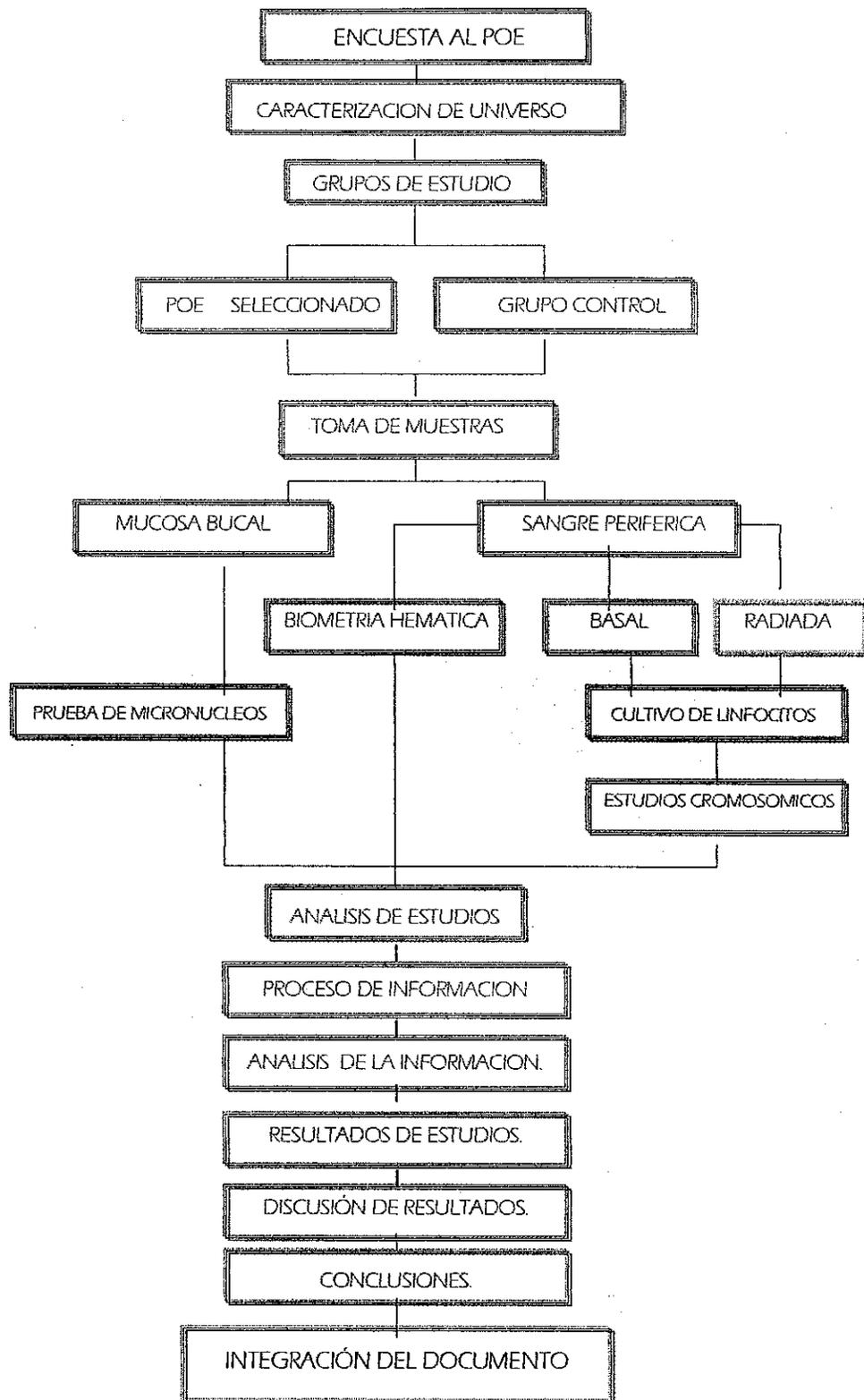


Fig.23 Flujograma.

## 9. RESULTADOS

En los resultados de laboratorio clínico, se observó que el POE como el grupo control, presentaron niveles normales en la prueba de biometría hemática.

### 9.1 CIFRAS DE LA PRUEBA DE MICRONÚCLEOS

En los cuadros 1 y 2 se presentan las frecuencias descriptivas de micronúcleos (MN) por 2000 células del POE y sus respectivos controles.

CUADRO 1. Células mucronucleadas y otras anomalías nucleares del POE, datos de 2000 células por individuo. (DS= desviación estándar. MN= micronucleos. BN= cel binucleadas. PN= picnosis. NL=núcleo lobulado. CC= cromatina- anormalmente condensada. CR= cariorrexis. CL= cariolisis. ANT= anomalías nucleares. totales sin incluir MN)

M	CMN	BN	PN	NL	CC	CR	CL	ANT
1	0	0	0	0	3	0	9	12
2	10	1	1	0	7	1	4	14
3	0	0	0	1	9	0	17	27
4	4	0	0	0	3	1	6	10
5	5	0	0	1	8	0	0	9
6	11	3	0	1	2	0	2	8
7	9	1	0	0	2	0	4	7
8	6	2	1	1	0	0	2	6
9	6	3	3	3	10	5	13	37
10	5	0	3	2	1	0	2	8
11	0	0	0	0	0	4	2	6
12	7	0	0	0	2	0	2	4
13	17	4	0	3	21	2	3	33
Total	80	14	8	12	68	13	66	181
Media	6.15	1.07	0.61	0.92	5.23	1.00	5.07	13.92
	±	±	±	±	±	±	±	±
DS	4.87	1.44	1.12	1.11	5.84	1.68	5.00	11.00

CUADRO 2. Células mucronucleadas y otras anomalías nucleares de grupo control.

M	MN	BN	PN	NL	CC	CR	CL	ANT
1	7	0	0	1	2	0	2	5
2	0	0	0	0	4	0	0	4
3	0	1	0	0	11	0	0	12
4	3	0	0	0	6	2	2	10
5	2	0	0	0	3	0	1	4
6	1	0	0	0	3	0	4	7
7	6	0	0	0	0	0	4	4
8	1	3	0	1	0	0	0	4
9	5	1	1	0	0	0	1	3
10	5	0	0	0	0	0	1	1
11	8	1	0	0	0	0	1	2
12	0	0	0	0	1	1	1	3
13	5	0	1	0	6	1	1	9
Total	43	6	2	2	36	4	18	68
Media	3.30	0.15	0.15	0.15	2.76	0.30	1.38	5.23
	±	±	±	±	±	±	±	±
DS	2.84	0.37	0.37	0.37	3.32	0.63	1.32	3.29

La imagen típica de un mucronúcleo de mucosa bucal se presenta en la figura 24.

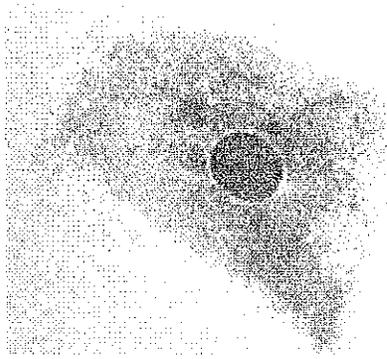


Fig.24. Fotografía donde se aprecia la presencia de una célula micronucleada.

### 9.1.1 FRECUENCIA DE MICRONÚCLEOS DE MUCOSA BUCAL

En la figura 25 se observan en grafica las diferencias equivalentes en media de los cuadros 1 y 2, que corresponden 6.15 en el POE versus 3.30 del grupo control.

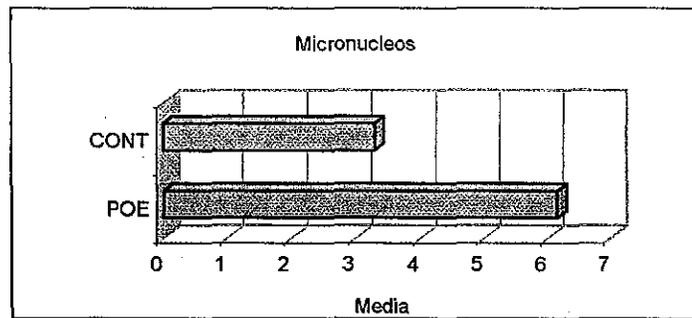


Fig. 25. Grafica que muestra la media de los resultados de la prueba de micronúcleos. En ella se observa la diferencia entre el POE y el grupo control.

### 9.1.2 FRECUENCIA DE OTRAS ANORMALIDADES NUCLEARES

Las frecuencias mas que se presentan evidentes tanto en POE como en el grupo control, fue la cromatina anormalmente condensada que alcanzó una cifra de 5.23 vs. 2.76 respectivamente, la cariólisis con 5.07 en el POE vs. 1.38 en control (ver figura 26). Si bien la tendencia del POE es ligeramente mayor que la del grupo control, en las anomalías totales si se observa una gran diferencia entre los dos grupos.

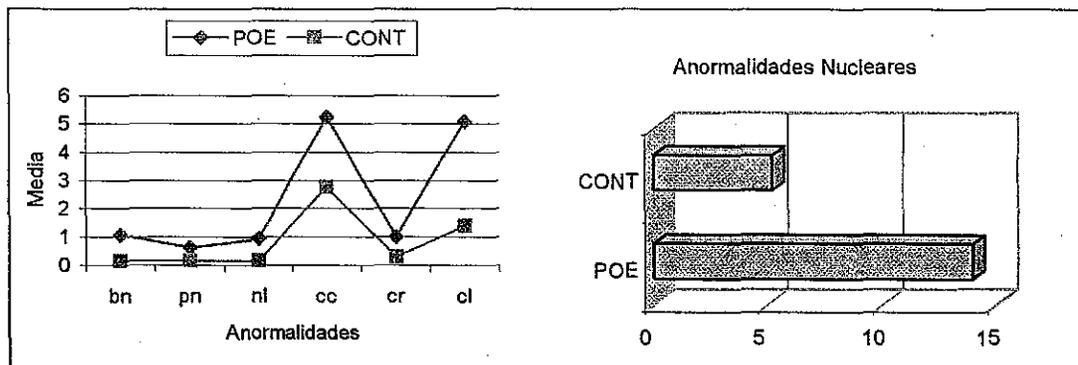


Fig. 26. La grafica izquierda muestra la media de las frecuencias y las diferencias entre el POE y el grupo control en cuanto a las anomalías nucleares y en la grafica derecha muestra la frecuencia, donde se observa la gran diferencia entre las anomalías nucleares totales sin incluir micronúcleos.

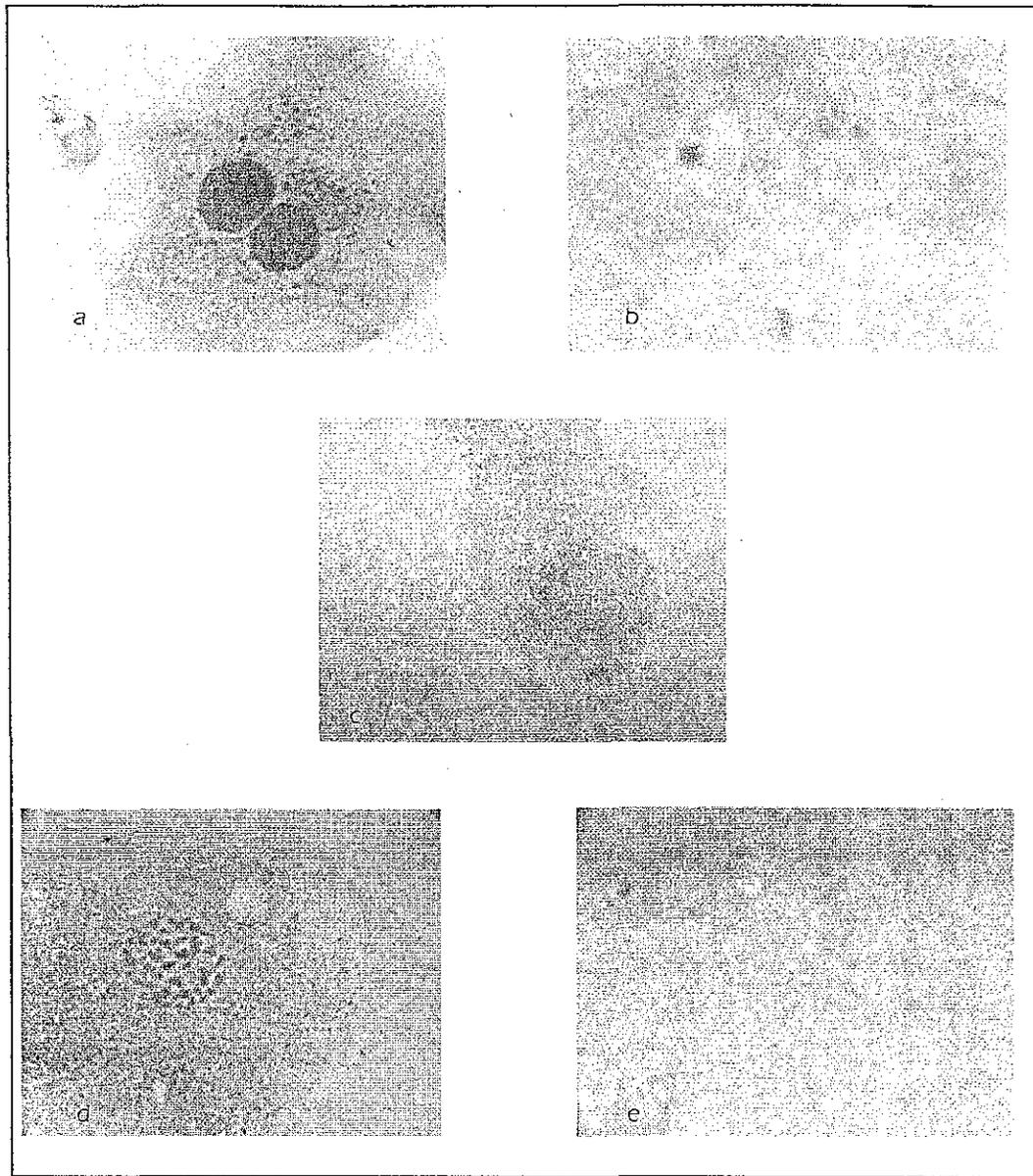


Fig.27. En estas fotografías se aprecian otras anomalías nucleares que se observaron en la técnica de micronucleos y las anomalías corresponden a : a) fotografía que muestra una Célula Binucleada. b) imagen donde se observa una Pícnosis. c) corresponde a una célula con la cromatina anormalmente condensada. d) muestra una anomalía nuclear conocida como Cariorrexis, y finalmente e) corresponde a una Cariolisis. Todas estas muestras fueron teñidas con colorante de Grifoid y las imágenes fueron obtenidas a 100X.

Una vez presentados los datos anteriores se presentan a continuación las cifras de las aberraciones cromosómicas (AC), donde los cuadros 3 y 4 corresponden a datos de muestras basales del POE y control respectivamente; y los cuadros 5 y 6 corresponden resultados de las muestras radiadas al igual que el anterior corresponden al POE y grupo control.

9.2 CIFRAS DE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS

A continuación se presentan las cifras de aberraciones cromosómicas en estado basal.

CUADRO 3. Aberraciones cromosómicas del POE en estado basal, correspondientes a 230 células por individuo (DS= desviación estándar. DIC= dicéntrico. ANI = anillo. RCT= rompimiento<sup>1</sup>. RCM= rompimiento<sup>2</sup>. GCT= gap<sup>1</sup>. GCM= gap<sup>2</sup>. DCT= deleción<sup>1</sup>. DCM= deleción<sup>2</sup>. Tras= traslocación. ATE= anafase temprana. ATA= anafase tardía. DIM= diminutos. ENR=endorreduplicación. AT= aberraciones totales sin incluir DIC y ANI. <sup>1</sup> cromatídico <sup>2</sup> cromosómico).

	DIC	ANI	RCT	RCM	GCT	GCM	DCT	DCM	Tras	TRT	ATE	ATA	DIM	ENR	AT
1p B	0	0	0	1	3	2	0	0	0	0	4	1	0	0	11
2p B	0	0	0	0	6	6	0	0	0	0	1	0	0	0	13
3p B															
4p B	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	5	1	0	3	11
5p B	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	2	0	0	2	7
6p B	0	0	0	0	2	10	0	0	0	0	6	0	0	1	19
7p B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	6
8p B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	1	5
9p B	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5
10pB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11pB	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	6
12pB	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
13pB	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Total	1	0	2	1	20	21	0	0	0	0	30	2	0	10	86
Media	0.08	0	0.16	0.08	1.66	1.75	0	0	0	0	2.50	0.16	0	0.83	7.16
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
DS	0.28	0	0.57	0.28	1.72	3.13	0	0	0	0	1.88	0.38	0	1.19	5.49

CUADRO 4. Aberraciones cromosómicas del grupo control en estado basal.

	DIC	ANI	RCT	RCM	GCT	GCM	DCT	DCM	Tras	TRT	ATE	ATA	DIM	ENR	AT
1c B	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	3
2c B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
3c B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
4c B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	1	4
5c B	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	1	0	0	3	8
6c B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	3
7c B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	3	6
8c B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
9c B	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
10cB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11cB	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
12cB	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
13cB	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	0	0	0	0	5	10	0	0	0	0	10	0	0	12	37
Media	0	0	0	0	0.38	0.76	0	0	0	0	0.76	0	0	0.92	2.84
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
DS	0	0	0	0	0.65	1.01	0	0	0	0	0.83	0	0	1.11	2.15

Los cuadros 5 y 6 corresponden a los datos de las aberraciones cromosómicas en estado inducido.

CUADRO 5. Aberraciones cromosómicas del POE bajo inducción radiactiva correspondientes a 230 células por individuo (DS= desviación estándar. DIC= dicéntrico. ANI = anillo. RCT= rompimiento<sup>1</sup>. RCM= rompimiento<sup>2</sup>. GCT= gap<sup>1</sup>. GCM= gap<sup>2</sup>. DCT= deleción<sup>1</sup>. DCM= deleción<sup>2</sup>. Tras= traslocación. ATE= anafase temprana. ATA= anafase tardía. DIM= diminutos. ENR= endorreduplicación. AT= aberraciones totales sin incluir DIC y ANI. <sup>1</sup> cromatídico <sup>2</sup> cromosómico).

	DIC	ANI	RCT	RCM	GCT	GCM	DCT	DCM	Tras	TRT	ATE	ATA	DIM	ENR	AT
1p R	0	6	0	1	5	6	0	2	1	1	6	1	0	4	27
2p R	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	6
3p R	1	2	1	0	5	5	0	0	0	0	5	2	0	0	18
4p R	1	1	2	1	1	1	1	1	0	0	7	4	0	0	18
5p R	2	3	0	0	2	0	0	0	0	0	4	0	0	0	6
6p R	0	3	0	0	0	14	0	0	0	0	3	0	0	4	21
7p R	4	2	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	3	7
8p R	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	4	0	0	0	6
9p R	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	2	0	0	2	7
10pR	1	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	4
11pR	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	1	5
12pR	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	2	1	0	0	6
13pR	4	0	0	0	0	3	0	0	1	0	1	0	6	0	11
Total	15	18	3	3	25	31	2	3	2	1	43	8	6	15	142
Media	1.15	1.38	0.23	0.23	1.92	2.38	0.15	0.23	0.15	0.07	3.30	0.61	0.46	1.15	10.92
DS	± 1.14	± 1.80	± 0.59	± 0.43	± 1.65	± 4.03	± 0.37	± 0.59	± 0.37	± 0.27	± 1.97	± 1.19	± 1.66	± 1.57	± 7.47

CUADRO 6. Aberraciones cromosómicas del grupo control bajo inducción radiactiva

	DIC	ANI	RCT	RCM	GCT	GCM	DCT	DCM	Tras	TRT	ATE	ATA	DIM	ENR	AT
1c R	1	1	1	1	5	7	1	0	0	0	7	1	0	0	23
2c R	1	4	1	3	6	1	0	0	0	0	5	3	0	2	21
3c R	6	2	0	1	3	0	0	0	0	0	19	4	0	0	27
4c R	3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	7	0	0	2	10
5c R	0	0	0	0	5	4	0	0	0	0	2	0	0	3	14
6c R	0	0	2	2	1	5	1	0	0	0	1	0	0	8	20
7c R	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	5	11
8c R	1	4	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	3	5
9c R	4	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	4
10cR	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11cR	0	0	0	0	1	1	2	1	0	0	1	0	0	2	8
12cR	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	4
13cR	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Total	16	15	4	7	25	25	5	1	0	0	49	9	0	25	150
Media	1.23	1.15	0.30	0.53	1.92	1.92	0.38	0.07	0	0	3.76	0.69	0	1.92	11.53
DS	± 1.92	± 1.46	± 0.63	± 0.96	± 2.21	± 2.21	± 0.65	± 0.27	± 0	± 0	± 5.16	± 1.31	± 0	± 2.42	± 8.73

Si bien se encontraron AC en estado basal, las siguientes fotografías corresponden a muestras inducidas, las cuales por el alto nivel de exposición al cual fueron expuestas, presentaron drásticas alteraciones las cuales fueron tomadas como control positivo para la validación de la técnica.



Fig.28. Imagen obtenida de una muestra radiada donde se observa una endoreduplicación, en este caso los cromosomas se duplican sin ocurrir división celular (Tinción Giemsa. 100X).

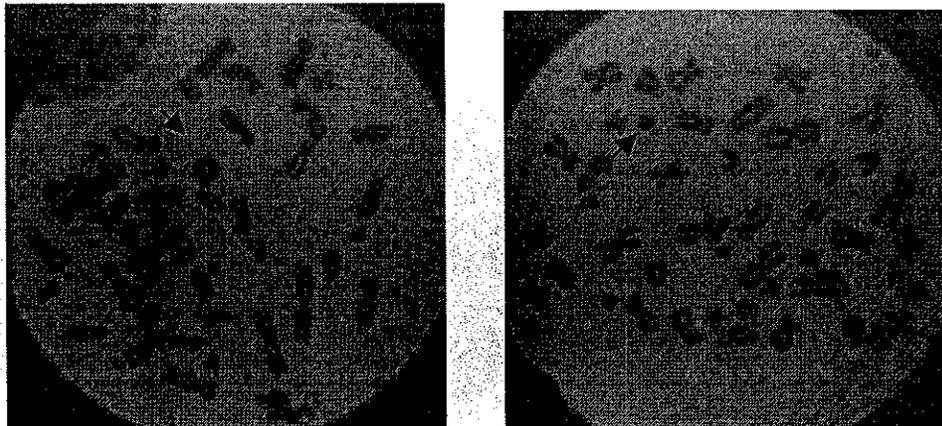


Fig.29. imágenes obtenidas de muestras inducidas, en ellas se puede apreciar los cromosomas en anillo. Este tipo de aberraciones es la mas significativa para evaluar efectos genotóxicos (Tinción Giemsa. 100X).

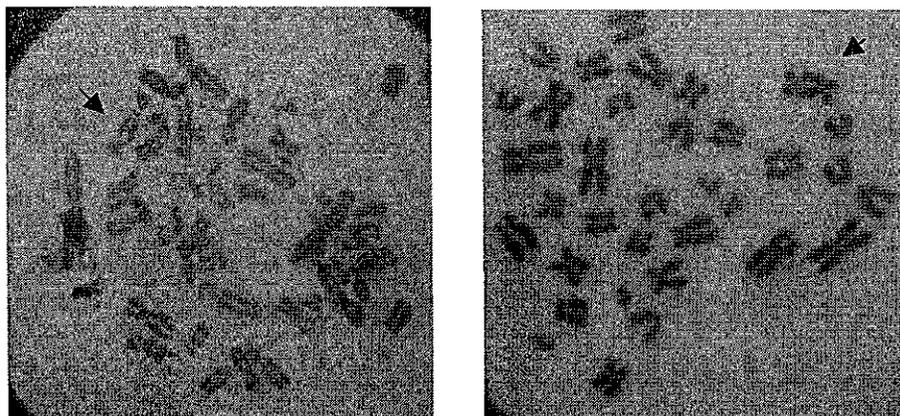


Fig.30. Imágenes obtenidas de muestras inducidas, en ellas se puede apreciar los cromosomas dicéntricos, los cuales para clasificar agentes genotóxicos en importancia ocupan el segundo lugar (después de los anillos) en la fotografía derecha se observan además anafases tempranas (Tinción Giemsa. 100X).

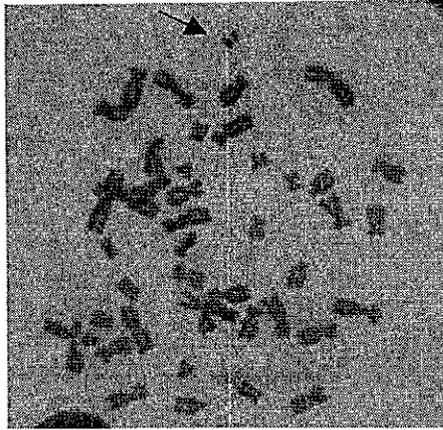


Fig.31 Imagen obtenida de muestras inducidas, donde se puede apreciar a unas pequeñas estructuras conocidas como minutos (Tinción Giemsa, 100X).

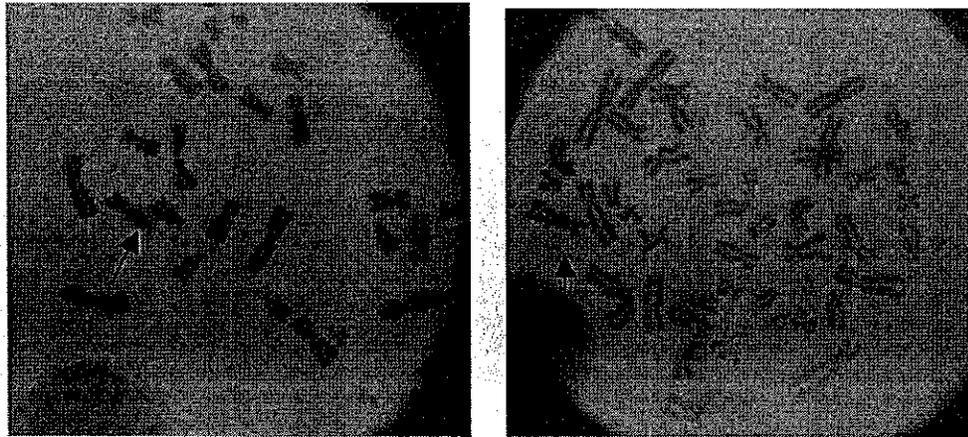


Fig.32. Fotografías obtenidas de muestras radiadas, en ellas se observan una importantes aberraciones conocidas como gaps, las cuales hace 16 años no poseían gran importancia tóxico-genético y que en la actualidad muchos estudios (incluyendo este) observan la gran sensibilidad por agentes genotóxicos.

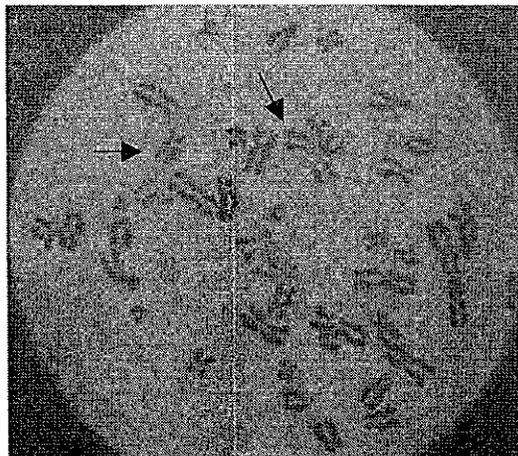


Fig.33 Imágenes obtenidas de muestras inducidas, y donde se pueden apreciar las anafases tempranas, aberraciones que también mostraron poseer gran sensibilidad a la inducción radiactiva (Tinción Giemsa, 100X).

### 9.2.1 FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN MUESTRAS BASALES

De los cuadros 3 y 4, la media presentada por cromosomas dicéntricos fue de 0.08 en el POE vs. 0.0 del grupo control. En cuanto a la presencia de anillos, no se presentó diferencia alguna en ambos grupos (0.0). Los gaps cromatídicos fueron 1.66 en POE vs 0.38 en controles, en los gaps cromosómicos fueron 1.75 en POE vs. 0.76 en controles, por otra parte, las anafases presentaron a 2.5 en POE vs. 0.76 en control y por ultimo las aberraciones totales sin incluir dicéntricos y anillos fue 7.16 en POE vs.2.84 en control. ver figura 34.

### 9.2.2 FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN MUESTRAS RADIADAS

En los cuadros 5 y 6, se presentó ligera diferencia en la presencia de cromosomas dicéntricos 1.15 en POE vs. 1.23 del grupo control. En la presencia de anillos, fue 1.38 en POE vs. 1.15 en controles. En gaps cromatídicos ambos grupos presentaron 1.92; En gaps cromosómicos 2.38 en POE vs. 1.92 en controles. En anafases se presentaron a 3.3 en POE vs. 3.76 en control (fig.34) y por ultimo en aberraciones totales sin incluir los dicéntricos y anillos fue 10.92 en POE vs.11.53 en control.

### 9.2.3 COMPARACIONES INTRAGRUPPO

Hasta ahora solo se han observado las diferencias entre el POE y el Grupo control. Sin embargo, si observamos el comportamiento entre un mismo grupo en estado basal respecto al radiado, encontramos que en el POE, existe aumento de cromosomas dicéntricos y anillos, sin embargo, en las demás aberraciones, este grupo mantiene prácticamente su tendencia (fig.34).

La respuesta del grupo control, al igual que el POE, presenta aumento en los cromosomas dicéntricos y anillos, no obstante, existe gran diferencia respecto al POE, ya que se duplicó la frecuencia en gaps cromosómicos y cromatídicos; aumentó mas de cuatro veces la presencia de anafases y las aberraciones totales (fig. 34).

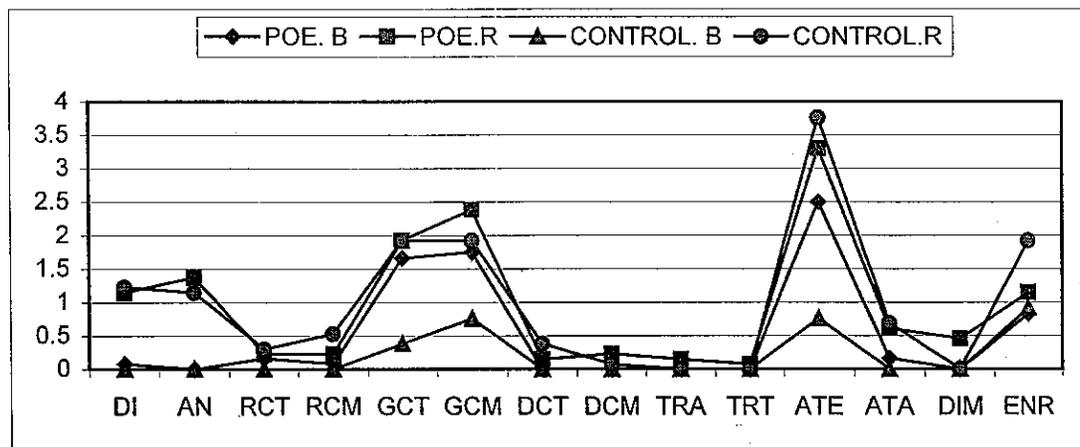


Fig.34. Grafica que muestra el comportamiento celular en muestras basales y bajo inducción radiactiva en ambos grupos. (DIC= Dicéntrica; AN = Anillo; RCT= Rompimiento<sup>1</sup>; RCM= Rompimiento<sup>2</sup>; GCT= Gap<sup>1</sup>; GCM= Gap<sup>2</sup>; DCT= Delección<sup>1</sup>; DCM= Delección<sup>2</sup>; Tras= Traslación; ATE= Anafase temprana; ATA= Anafase tardía; DIM= Diminutos; ENR=Endoreduplicación) <sup>1</sup> Cromatídico <sup>2</sup> Cromosómico.

### 9.3. HISTORIAL DOSIMETRICO DEL POE

El cuadro 7 muestra los datos correspondientes al POE estudiado. Las dosis anuales de exposición registradas fueron muy bajas con respecto a la dosis máxima permitida en nuestro país (50 mSv anuales). Las dosis aquí descritas corresponden solo al servicio de radioterapia, sin embargo 5/13 POE laboran en doble jornada y/o en dos servicios diferentes que utilizan radiación ionizante.

Cuadro 7. Relación de los datos del POE asociados a su historial dosimétrico.

No.	Edad	Antigüedad (años)	Dosis anuales (mSv)	Dosis acumuladas (mSv)	Sexo
1	34	3	2.444	7.334	F
2	45	2	9.028	18.056	F
3*	21	5	3.001	9.001	F
4	26	3	2.859	8.578	F
5*	24	5	4.486	13.458	M
6	26	3	2.990	8.971	M
7	59	28	1.785	50.000	F
8*	53	25	1.534	38.370	M
9	32	3	2.550	7.651	F
10	26	4	3.279	13.118	F
11*	26	5	2.191	6.574	M
12*	51	3	8.396	25.190	F
13	41	18	1.640	29.529	M
Media	35.6	7.769	3.553	18.141	
±	±	±	±	±	8F/5M
DS	12.7	9.311	2.423	13.755	

\* POE integrado a una segunda area laboral.

Para evaluar si el tiempo de laborar tiene relación con la dosis acumulada se realizó una correlación lineal entre la antigüedad laboral vs. dosis acumulada resultando positiva ( $p=0.001$  Pearson) (figura 35). Dicho comportamiento es esperado dado que a mayor tiempo de estar laborando existirá una mayor dosis acumulada.

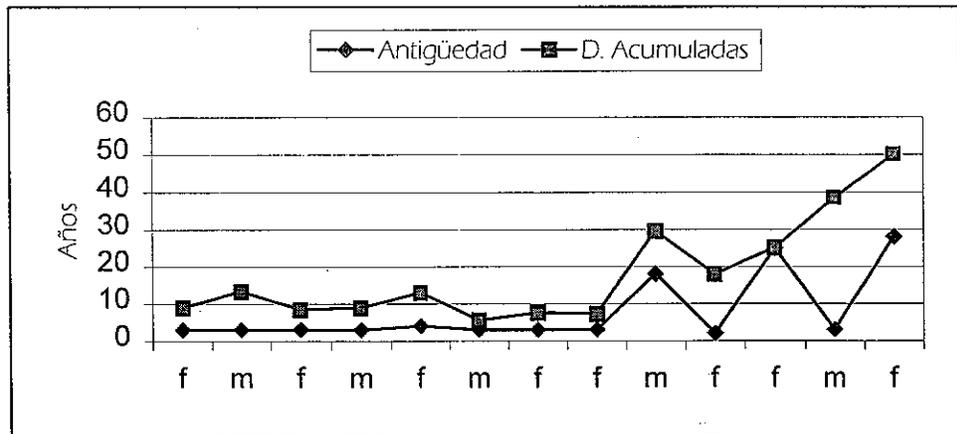


Fig. 35. Grafica correspondiente a dosis acumuladas vs edad, donde por lógica se esperaría encontrar una correlación lineal o de la forma que aquí se presenta.

En la grafica se observa que las dosis anuales se mantienen constantes independientemente de la edad del POE (fig.36).

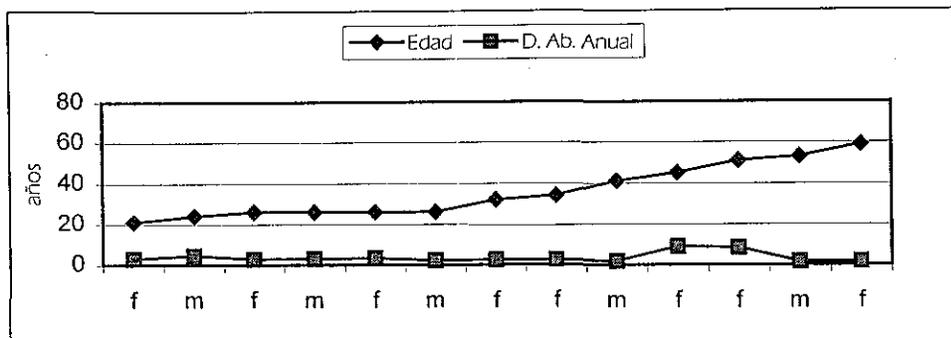


Fig. 36. Grafica que corresponde al promedio de las dosis absorbidas anuales vs edad donde la tendencia de exposición debe mantenerse constante independientemente de la edad del trabajador.

#### 9.4. COMPARACIONES ESTADÍSTICAS

Para analizar la magnitud de daño detectada por cada método se estudiaron muestras independientes y pareadas (cuadro 8). Las frecuencias de MN no resultaron estadísticamente diferentes entre POE y controles, mientras que en otras anomalías nucleares sí. También se observó que las frecuencias de AC basales en POE fueron mayores que sus controles mientras que en muestras radiadas (1.5 Gy), no hubo diferencias.

Es notable que el número de dicéntricos aumentó significativamente en condiciones basales. Un comportamiento esperado intragrupo es que en el grupo control se observaron frecuencias de AC incrementadas en muestras radiadas con respecto a basales. En el grupo POE las muestras radiadas resultaron aumentadas con la prueba de Wilcoxon y no diferentes con la prueba de t-Student lo cual es explicable dado que los valores basales en POE resultaron mayores que sus controles.

Cuadro 8. Análisis comparativo entre ambos métodos de biomonitordeo.

Tipo de muestra	Prueba	Valores
Micronúcleos en mucosa POE vs Control	t para muestras independientes	t= 1.903; N.S.
Anormalidades nucleares totales. POE vs Control	t para muestras independientes	t= 10.694; p<0.004
Aberraciones basales POE vs Control	t para muestras independientes	t= -7.644; p<0.002
Aberraciones radiados POE vs Control	t para muestras independientes	t= -1.94; N.S.
Dicéntricos basales POE vs Control	t para muestras independientes	t= 4.84; p<0.039
Dicéntricos inducidos POE vs Control	t para muestras independientes	t= 1.114; p= 0.303; N.S.
POE vs Control POE	t para muestras pareadas	T= - 2.753; p<0.19; N.S.
Aberraciones basales vs inducidas Control	Rangos de Wilcoxon t para muestras pareadas	Z=2.27; p<0.023 T= - 4.28; p<0.001
Aberraciones basales vs inducidas	Rangos de Wilcoxon	Z=-3.065; p<0.002

Dado que fueron considerados en el presente estudio 13 individuos por grupo, se realizó un segundo análisis por número de células analizadas, resultando un total de 26,000 células analizadas por grupo para la prueba de MN y 12,317 mitosis por grupo para la prueba de AC.

Los resultados del análisis con la prueba de  $\chi^2$  se muestran en el cuadro 9. Se observa que al aumentar el tamaño de la muestra se detecta incremento en la frecuencia de MN en POE vs. Control, al igual que la prueba de AC basales y concordando con el análisis previo en cuanto a no observar diferencias en aberraciones cromosómicas entre POE y controles radiados.

Cuadro 9 Tablas de contingencia de las distintas pruebas.

Grupos de comparación	$\chi^2$ dicentricos	$\chi^2$ anillos	$\chi^2$ Ab Tot	$\chi^2$ MN	$\chi^2$ ANT
POE basal vs. POE radiado	12.258 p=0.0005*	18.013 p<0.0001*	13.833 p=0.0002	-	-
Control basal vs. Control radiado	16.010 p<0.0001*	15.009 p=0.0001*	68.806 p=0.0001*	-	-
POE basal vs. Control basal	1.000 p=0.3145	-	19.618 p<0.0001*	11.156 p=0.0008*	51.528 p<0.0001*
POE radiado vs. Control radiado	0.032 p=0.8574	0.309 p=0.5783	0.222 p=0.6377	-	-

En el cuadro 10 se muestran correlaciones estadísticas de la frecuencia de daño detectado por micronúcleos y aberraciones cromosómicas con respecto a dosis de exposición en el POE. Se observa que no hay correlación entre dosis y frecuencia de micronulceos o aberraciones cromosómicas en muestras radiadas mientras que a mayor dosis de exposición mayor número de anomalías nucleares y aberraciones cromosómicas basales.

Cuadro 10 Correlación de Pearson aplicado a las técnicas de biomonitoreo y dosis acumuladas.

Comparación dosimetría física y biológica (correlación de Pearson)	+/-	Valores
Dosis acumuladas POE vs. Micronulceos	0	p=0.258
Dosis acumuladas POE vs. Anomalías nucleares	+	P<0.031*
Dosis acumuladas POE vs. Aberraciones basales	+	P<0.037*
Dosis acumuladas POE vs. Aberraciones inducidas	0	P= 0.292

#### 9.4.1. PERTINENCIA DE LOS METODOS

Con el fin de proyectar los alcances y limitaciones, a las pruebas correspondientes a micronúcleos y aberraciones cromosómicas, se les realizó un estudio de sensibilidad (probabilidad de clasificar correctamente a aquellos que tienen la característica de interés) y especificidad (probabilidad de clasificar correctamente a aquellos que no tienen la característica de interés), que se observa en el cuadro 11.

Cuadro 11. Estudio de sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas.

Tipo de estudio	Sensibilidad	Especificidad
Micronúcleos en mucosa bucal	0.75	0.50
Anormalidades nucleares totales	0.75	0.25
Cromosomas basales	0.75	0.91
Cromosomas radiados	0.25	0.75

Por ultimo, en cuadro 12 se describen a grandes rasgos las características de los métodos de biomonitordeo, en una escala de medición tipo nominal cualitativa, esto con el fin de proyectar las bondades en cuanto al nivel técnico, rapidez, costo e infraestructura.

Cuadro 12. Escala de medición cualitativa de ambas técnicas.

	Micronúcleos	Cromosomas
Complejidad (nivel técnico)	Baja	Alta
Rapidez (tiempo)	Alta	Baja
Costo	Bajo	Alto
Infraestructura	Media	Alta

## 10. DISCUSIÓN

En las últimas décadas de investigación epidemiológica se ha obtenido valiosa información respecto a los riesgos de la población por factores ambientales, por lo cual se han realizado esfuerzos para la prevención de la población a carcinogénesis por factores externos [63,64,65,66,67,68]. En contexto, este estudio propuso identificar si el personal ocupacionalmente expuesto (POE) presentaba daño genético a dosis bajas de radiación (que es a la que se expone de forma cotidiana), si existe diferencia respecto a un grupo control en condiciones *in vivo* y bajo inducción radiactiva *in vitro*.

Estudios previos han descrito el gran espectro de daños que ocurre en el ADN y otras macromoléculas de células irradiadas. Ejemplo de ello, es que con rayos  $\gamma$  a dosis de 1 Gy, se producen cerca de 1000 rompimientos de cadena simple, 40 rompimientos de cadena doble, y cientos de daños de bases [69]. Claro que una exposición de esa magnitud no ocurre en la vida cotidiana, y pudiera darse solo en accidentes radiológicos y/o radioterapias. Sin embargo, los estudios de exposiciones crónicas a dosis bajas son muy escasos [70] y con la utilización de micronúcleos de mucosa bucal, casi nulos.

En este estudio, se analizaron un total de 26 muestras, 13 correspondientes a POE (y 13 a controles) que cumplieron con características de control radiológico. En ningún caso se rebasó el límite máximo permitido en México que es 0.05Gy/año de dosis absorbidas [71] (que por cierto en Inglaterra es de 0.03 y en Alemania es de 0.02Gy/año), además ningún trabajador sufrió accidente radiológico en los últimos 5 años.

En el examen de Biometría hemática, ambos grupos presentaron resultados normales, señalando a esta técnica como inapropiada para cuestiones preventivas aplicadas al POE, esto debido a que los gradientes de esta prueba son alterados por múltiples factores, y no necesariamente por agentes genotóxicos.

La prueba de Micronúcleos (MN), fue capaz de identificar mayor presencia de MN y de anomalías nucleares totales en el POE que en el grupo control. Si bien, no hubo correlación entre las dosis absorbidas y presencia de MN, esto quiere decir que la presencia de MN no necesariamente se presentó por la variable radiactividad, datos similares se obtuvieron de un estudio en 1992, los que proporcionaron un insuficiente poder estadístico intra-individual para estándar epidemiológico [72].

Por otra parte, al utilizar la prueba estadística de Roc, la técnica de MN presentó 0.75 de sensibilidad y 0.50 de especificidad. Si bien, la especificidad de esta prueba no es la esperada, posiblemente se debe a que en los datos de cromosomas basales de ambos grupos, no se presentaron aberraciones condicionantes para la formación de micronúcleos [51]. Sin embargo, utilizando el universo de trabajo celular con la prueba  $\chi^2$ , se observa diferencia significativa ( $p=0.0008$ ) entre células del POE respecto al grupo control, lo que concuerda con lo publicado en 1994, que menciona que la frecuencia de MN se incrementa de forma lineal con dosis acumuladas de rayos  $\gamma$  [55].

Cabe señalar, que es importante contemplar el perfil epidemiológico de cada individuo antes de aplicar la prueba de micronúcleos, ya que existen dificultades para estandarizar esta prueba, la cual presenta factores de variabilidad individual. Uno de estos factores, se relaciona directamente con la dieta (altos niveles de vitamina B-12, contrarrestan la presencia de MN) [73]. Otro factor, es la edad (que es directamente proporcional a la presencia de MN), en el caso del sexo el cromosoma X siempre está presente en los MN [74,75], el tabaquismo, las infecciones bacterianas, la inflamación y el consumo de medicamentos [59,76,77], aumentan también la frecuencia de MN.

Para validar este método como biomonitor de riesgo para carcinogenesis, se tiene que contemplar estrictamente las variables intervinientes (edad, sexo y hábitos alimenticios entre otros) y para obtener suficiente poder estadístico intra-individual para realizar un estándar epidemiológico, se debe aumentar el universo de estudio, además de contemplar el comportamiento de las anomalías nucleares de fondo [71].

En el análisis cromosómico, de 230 metafases por individuo, las muestras basales presentaron una mayor presencia de aberraciones cromosómicas en el POE que en el grupo control, las aberraciones más frecuentes fueron los gaps tanto cromatídicos como cromosómicos y solo en un caso se encontró un cromosoma dicéntrico, en el caso de este último, corresponde a la muestra de un POE que sufrió un accidente radiológico 8 años atrás, información muy importante para proyectar los alcances de esta técnica.

En muestras radiadas (a 1.5 Gy), los valores obtenidos fueron similares y poco significativos tanto en el POE como en los controles. Si bien, estos datos muestran un comportamiento esperado teóricamente, el grupo control muestra un menor número de aberraciones cromosómicas en condiciones basales respecto al POE. No obstante, en muestras radiadas, el mismo grupo control presenta un número de igual a ligeramente mayor de aberraciones cromosómicas al grupo del POE.

Lo anterior apoya a la teoría de la respuesta adaptativa [78,79], la cual consiste en una disminución en la frecuencia de daño a bajas dosis debido a la activación de mecanismos de reparación, aquí, es importante señalar que la diferencia entre las muestras basales y radiadas del POE (excluyendo anillos y dicéntricos) es mínima, lo que se traduce en una mayor capacidad de reacción en los sistemas de reparación del POE respecto a los controles.

Al ser analizados los valores obtenidos, mostraron no ser debidos al azar, además, a esta técnica se le aplicó la prueba estadística de ROC y presentó 0.75 de sensibilidad y un 0.91 de especificidad. Si bien esta técnica, ha sido utilizada y estandarizada para detectar daños (especialmente anillos y cromosomas dicéntricos) en altas dosis radiactivas [80], a dosis bajas, se debe considerar la alta sensibilidad de los gaps y de anafases tempranas como indicadores confiables de agentes genotóxicos.

Si bien, la normatividad Mexicana establece las condiciones de seguridad e higiene que se deben cumplir en los centros de trabajo y control del POE, además de considerar que este tipo de exposición puede constituir un riesgo para la salud; también señala la obligatoriedad para que se practiquen exámenes médicos como parte del control radiológico operacional y de vigilancia epidemiológica. Sin embargo, no es posible establecer una concordancia con las normas internacionales sobre los aspectos mencionados (simplemente por que no existir referencia al momento de preparar nuestras normas). Esto quiere decir, que los límites permisibles de dosis absorbidas al igual que los métodos de biomonitoreo, difieren en todos los países.

Por lo anterior, no se debe escatimar en infraestructura, higiene y en los recursos de biomonitoreo que se encuentran a nuestro alcance, o bien en aquellos que se pueden implementar. Todo esto para brindar un amplio nivel de bioseguridad en los ambientes ocupacionales. Siempre se debe tener presente que su garantía no es un gasto, es una inversión que garantiza el bienestar sustentable y la salud del POE a las radiaciones ionizantes en cualquier institución pública o privada donde suceda la exposición.

## 11. CONCLUSIONES

1. Los datos anuales obtenidos de las biometrías hemáticas realizadas al personal expuesto a radiaciones son poco significativos para ser utilizados como método de biomonitoreo epidemiológico ambiental.
2. La prueba de MN en mucosa es sensible a diversos agentes genotóxicos, y en este caso, esta técnica fue capaz de identificar mayor presencia de MN y Anormalidades Nucleares en el POE que en el grupo control.
3. En el presente estudio se demostró que, la cariólisis, es una de las anormalidades nucleares significativamente más sensibles a la radiación.
4. Aún en estado basal, los individuos del POE presentaron mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas con respecto a sus controles.
5. Nuestros resultados evidenciaron que los gaps tanto cromatídicos como cromosómicos y las anafases tempranas, pueden considerarse como aberraciones cromosómicas sensibles a la radiación además de los anillos y dicéntricos.
6. En muestras inducidas a 1.5 Gy tanto POE como el grupo control presentaron daño genético evidenciado por la presencia de cromosomas dicéntricos y anillos.
7. Existe mayor capacidad de respuesta en los sistemas de reparación del POE que en el grupo control.
8. Tanto la técnica de micronúcleos como la de aberraciones cromosómicas mostraron grandes virtudes para ser aplicadas como biomonitores de rutina en POE.

## 12. RECOMENDACIONES

Se reconoce que diferentes enfermedades humanas resultan por exposiciones crónicas de factores ambientales de tipo físico y químico [81]. Dentro de los químicos se destacan los solventes y pesticidas, y de los físicos las mismas radiaciones ionizantes. Cualquiera de ellos representa un flagrante riesgo para el bienestar y salud humanas, particularmente en los entornos laborales donde su impacto se multiplica por el mecanismo de la exposición:

En consecuencia, y luego del desarrollo de la presente investigación, se hace necesario e indispensable el seguimiento de las siguientes recomendaciones para minimizar y controlar el daño ocasionado:

- Se debe considerar al estudio cromosómico como un buen sistema anual de vigilancia epidemiológica, ya que los daños cromosómicos provocados por exposiciones radiactivas crónicas o agudas, se pueden seguir presentando hasta 8 años después.
- Cuando se sospeche de una sobre exposición accidental de radiación, es factible utilizar la prueba de micronúcleos, ya que el ciclo de vida de las células de mucosa bucal es condicionado por los hábitos del individuo y se reduce a un par de meses.
- Es importante tener en cuenta estas técnicas de biomonitoreo para aplicarse en POE que cuente con servicios de dosimetría física y aun más en aquellos que no posean este servicio.
- La aplicación de métodos citogenéticos en el área de la salud ambiental en diversos escenarios laborales puede reducir incertidumbres de riesgo por exposiciones crónicas a diversos agentes físicos y/o químicos que dañan la salud de los trabajadores.
- No obstante que la disponibilidad laboratorial de las determinaciones referidas del impacto genético no esta generalizada en todos los servicios de salud pública como parte de los sistemas vigentes de vigilancia epidemiológica ambiental, su implementación operativa es altamente recomendable por el favorable balance en la relación costo beneficio en favor del bienestar y salud de los trabajadores hospitalarios expuestos a las radiaciones ionizantes.
- Cabe señalar que las diferentes normas de seguridad no son auto aplicativas. Por lo tanto, cualquier institución implicada y comprometida con el bienestar de su personal, así como cualquier trabajador de la misma, deben asumir sus diferentes responsabilidades para ser consecuentes con las indicaciones establecidas y evitar riesgos innecesarios y sanciones administrativas.
- Por ultimo, considerar que el aumentar el nivel de escolaridad y la edad mínima como requisito para laborar en los centros de trabajo que utilicen fuentes radiactivas, pueden disminuir los factores de vulnerabilidad y de riesgo ocupacional a nivel individuo e institución.

### 13. REFERENCIAS

1. Perera F. Environ and cancer. Science. 1997; 28: 1068-1073.
2. Schull W. Late radiation responses in man: Current evaluation from results from Hiroshima and Nagasaki. Adv Space Res. 1983.3: 231-239.
3. Plappert G. Changes in the repair capacity of blood cells as a biomarker for chronic low- dose exposure to ionizing radiation. Environmental and molecular mutagenesis 1997. 30:153-160.
4. Schmid W. The Micronucleus Test. Mutat Res.1975. 31:9-15.
5. Albertini R , Nicklas J, O'neill J. Future Reseach Directions for Evaluating Human Genetic and Cancer Risk From Enviromental Exposures. Environ Healt Perspect: 1996; 104:3;503-510.
6. Hanawalt P. Role of transcription-coupled ADN repair in susceptibility to environmental carcinogenesis. Environ-Healt-Perspect. 1996;104:3:547-551.
7. Encarta enciclopedia. Microsoft. 2000.
8. Alpen E. Radiation Biophysics. California EUA: Academic Press; 1998.
9. Cruz J, Chamiz R, Garriz P. Estructura Atómica: Un enfoque Químico. México: Fondo Educativo Interamericano; 1986.
10. Segovia N, Bulbulian S. La radiactividad en el hábitat. Ciencia y desarrollo. 1986;70:41-49.
11. Griffith J. Introducción al Análisis Genético. Madrid; MacGraw-Hill; 1993.
12. Wolfgang-Ulrich M. Micronuclei: a biological indicator of radiation damage Mutat Res. 1996;366:163-169.
13. Rooney D, Czepulkowsky B. Human Cytogenetics. Volume II. Malignancy and Acquired Abnormalities. Oxford Irl & University Press;
14. Vogel,F, Motulsky,A, Human genetics. Problems and approaches, Germany: Springer: 1997.
15. Feynman R, Sands M, Leighton R. Física. Mecánica, radiación y calor. Addison Wesley Longman. México; 1998.
16. Halliday D, Resnick R, Walker J. Fundamentos de física. Cecsá. México. 2001.
17. Fucic A. X-rays, microwaves and vinyl chloride monomer: their clastogenic and aneugenic activity, using the micronucleus assay on human lymphocytes. Mutat Res 1992. 282:265-271.
18. Hewitt P. Conceptual Physics. Delaware EUA: Addison-Wesley Iberoamericana; 1995
19. Alonso M, Finn E. Física. E.U.A. Addison-Wesley Iberoamericana: 1995.
20. Ortiz M. Riesgos a la salud derivados de la exposición a las radiaciones ionizantes. Comisión nacional de seguridad nuclear y salvaguardias. México. 1998
21. Giancoli D. Física para universitarios. México. Pearson Educación. 2002.
22. Cuevas S. Aspectos de Biofísica. México: U de G; 1992.
23. Graham L. SEM and X-ray Microanalysis. Great Britain: Analytical Chemistry by Open Learning; 1987.
24. Michette A, Buckley C. X-Ray. Science and technology. U.K. Institute of physics publishing Bristol and Philadelphia. 1993.
25. Acosta V, Cowan C Graham. Física Moderna. México: Oxford University Press; 1999.
26. Kenneth K. Física Moderna. México: Limusa; 1991.
27. Gerald K. Biología Celular y Molecular. México: MacGraw-Hill Interamericana; 1996.
28. Salamanca F. Citogenética Humana. México. Panamericana, 1996.
29. Bryant P. Mechanisms of radiation-induced chromatid breaks
30. Lewin B, Genes VII. N.Y. Oxford University Press. 2000.

31. Singh N. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage. *Exp. Cell Res.* 1988. 175:184-91.
32. Guízar J, Vázquez. *Genética Clínica. Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias.* México: Manual Moderno;2001.
33. Singer M, Berg P. *Genes y genomas. Una perspectiva cambiante.* Barcelona: Omega. 1993.
34. Bobadilla M. Análisis de inestabilidad cromosómica inducida in vitro con mitomicina-C en linfocitos de pacientes con síndrome Seckel. Tesis de grado en maestría en genética humana. U de G, México. 1999.
35. Gardner E, Simmons M, Snustad P. *Principios de genética.* México: Limusa.2000.
36. *Guías para evaluar riesgos de mutagenicidad.* EPA 1988.
37. Partt W, Ruddon R, Ensminger W, Maybaum J. *The Anticancer Drugs.* New York: Oxford;1994.
38. Trichopoulos D, Li F, Hunter D. What Causes Cancer?. *Scientific American*: 1996.
39. El Zein R, Conforti-Froes N, Au W. Interactions Between Genetic Predisposition and Environmental Toxicans for Development of Lung Cancer. *Environ Mol Mutagen*: 1997.
40. Wei Q, Cheng L, Hong C, Spits M. Reduced ADN Repair Capacity in Lung Cancer Patients. *Cancer Res*: 1996.
41. Melnick R, Kohn M, Portier C. Implications for Risk Assessment of Suggested Nongenotoxic Mechanisms of Chemical Carcinogenesis. *Environ Healt Perspect*: 1996.
42. Tice R, Agurell E, Anderson D. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicologic testing. *Environ mol. Mutagen* 2000;35 (3):206-21
43. Savage J: Update on target theory as applied to chromosomal aberrations *Environ Mol. Mutagen.* 1993; 22(4):198-207
44. *Guías para evaluar riesgos carcinogénicos.* EPA 1988.
45. Tucker D, Preston J. Chromosome Aberrations, Micronuclei, Aneuploidy, Sister Chromatid exchanges and Cancer risk Assessment; *Mutat Res.* 1996.
46. Voisin P. Chromosome aberrations scoring for biological dosimetry in a critical accident. *Radiation proteccion dosimetry* 1997.
47. Edwards A. The use of chromosomal aberrations in human lymphocytes for biological dosimetry. *Radiation Research* 1997.
48. Doses in radiation accidents investigated by chromosome aberration analysis XXI. 1994-1996. NRPB-R291. 1996. U.K.
49. Therman E. *Human Chromosomes, Structure, Behavior Effects.* Springer-Verlar.N.Y.1986
50. Fenech M, Morley. 1996
51. Savage R. *Micronuclei: Pitfalls and Problems: Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*;UK.2000.
52. Schlegel R. Assessment of cytogenetics damage by quantification of micronuclei in human peripheral blood erythrocytes. *Cancer research* 1986. 46:3717-3721.
53. Kirsh V. The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breackage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutat. Res.* 1997. 392(1-2):19-30. :
54. Yamamoto K, Kilachi L. Comparasion of Diametres of Micronuclei induced by Clastogens and by Splinde Poisons. *Mutat Res*; 1980.

55. Sarto F, Finotto S, Giacomelli L, Mazzotti D, Tomanin R. The Micronucleus Assay in Exfoliated Cells of Human Buccal Mucosa: Mutagenesis; 1987.
56. Torres B. Genotoxicidad de drogas antineoplásicas: Tesis Doctoral, U de G. México; 2000.
57. Müller W. Micronuclei: a biological indicator of radiation damage. *Mutation research* 1996; 366: 163-169.
58. Titenko N, Jacob R, Shang N, Balaraman A & Smith M. Micronuclei in Lymphocytes and Exfoliated Buccal Cells of Postmenopausal Women with dietary changes in Folate. *Mutat Res*. 1998.
59. Torres B, De Anda C, Ramírez MP, Sánchez J, Cantu JM, Zúñiga G. Determination of diesel Genotoxicity in Firebreather by Micronuclei and Nuclear Abnormalities in Buccal Mucosa. *Mutat Res*; 1998.
60. Feigelson H, Ross R, Yu M, Coetzee G, Reichard J, Henderson B. Genetic susceptibility to cancer from exogenous and endogenous exposures. *J-Cell-Biochem-Suppl*. 1996;25:15-22.
61. Beaglehole R, Bonita R, Tord K. *Epidemiología básica*. Organización Panamericana de la Salud. 1994.
62. Facultad Nacional de Salud Pública. Vigilancia epidemiológica de los factores de riesgo ambientales en el mundo del trabajo. Universidad de Antioquia. España: 2003
63. Martin R, Hildebrand K, Yamamoto J, Rademaker A, Barnes M, Douglas G, Arthur K, Ringrose T, Brown I. An increased frequency of human sperm chromosomal abnormalities after radiotherapy. *Mutat Res* 1986; 174:219-225.
64. Moran E. Environment, cancer and molecular epidemiology: air pollution. *J Environ-Toxicol-Oncol*. 1996;15:2-4:97-104.
65. Morgan W, Day J, Kaplan M, McGhee E, Limoli C. Genomic instability induced by ionizing radiation. *Radiat-Res*. 1996;146:3:247-258.
66. Poli P, Buschini A, Campanini N, Vettori M, Cassoni F, Cattani S, Rossi C. Urban air pollution: Use of different mutagenicity assays to evaluate environmental genetic hazard. *Mutat Res*. 1992;298: 113-123.
67. Willett W, Colditz G, Mueller N. Strategies for minimizing cancer risk. *Scientific American*. 1996;58-63
68. Degraffi F & Col. Analysis of micronuclei and microtubule arrangement to identify aneuploidy-inducing agents in cultured mammalian cell.
69. Suralles J, Autio K, Nylund L. Molecular Cytogenetic Análisis of Buccal Cells and Lymphocytes from Benzene-exposed Workers. *Carcinogenesis Vol.18*. 1997.4 :817-823.
70. Goodhead D, Thacker J, Cox R. Weiss lecture effects of radiations of different qualities on cells: molecular mechanisms of damage and repair. *Int J Radiat Biol*. 1993;63:543-556.
71. Curso de protección radiológica para personal ocupacionalmente en instalaciones de radioinmunoanálisis e investigación. Medidores industriales y medicos, S.A. de C.V. México 2002.
72. Hagelstrom A, Gorla N, Larrípa I. Chromosomal damage in workers occupationally exposed to chronic low level ionizing radiation. *Toxicology Letters*. 1995 Mar;76(2):113-7
73. Tolbert P, Shy C, Allen J. Micronuclei and other Nuclear anomalies in Buccal Smears: Methods Development. *Mutat Res*. 1991.271: 69-77.
74. Titenko N, Jacob R, Shang N, Balaraman A, Smith M. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mutat. Res*. 417 .1998. 101-104.

75. Richard F, Muleris M, Dutrillaux B. The Frequency of Micronuclei with X Chromosome increases with Age in Human Females; *Mutat Res*;1993.
76. Hando J, Nath J, Tucke J. Sex Chromosomes, micronuclei and aging in woman *Chromosoma* 1994 9 Jun 103{3}; 186-92
77. Fenech M, Neville S, Rinaldi J. Sex is an important variable affecting spontaneous micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutat Res* 1994 Oct-Dec;313{2-3}:203-7.
78. Thierens H, Vral A, De Ridder L. A cytogenetic study of radiological workers: effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequency. *Mutat Res* 1996 Jun 10;360{2}:75-82
79. Bauchinger M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. *Mutat Res* 1995. 339: 177-189.
80. Tucker D. Automated micronucleus scoring workshop report. *Environmental and molecular mutagenesis* 1989. 14: 62-63.
81. Vijalayaxmi P. Variability in adaptative response to low dose radiation in human blood lymphocytes: consistent results from chromosome aberrations and micronuclei. *Mutat. Res.* 1995. 348{1995}45-50
82. Gourabi H, Mozdarani H .A cytokinesis-blocked micronucleus study of the radio adaptive response of lymphocytes of individuals occupationally exposed to chronic doses of radiation. *Mutagenesis* 1998 Sep; 13{5}:475-80
83. Waldren C. Measurement of low levels of x-rays mutagenesis in relation to human disease. *Genetic* 1986.83:4839-4843.
84. Bigatti P, Lamberti L, Ardito G, Armellino F .Cytogenetic monitoring of hospital workers exposed to low-level ionizing radiation. : *Mutat Res* 1988 Feb;204{2}:343-7
85. Barquinero J, Barrios L, Caballin M, Miro R, Ribas M, Subias A. Cytogenetic analysis of lymphocytes from hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat Res* 1993 Apr;286{2}:275-9.
86. Chang W, Hsieh W, Chen D, Lin Y, Hwang J, Hwang J, Tsai M, Hwang B. Change in centromeric and acentromeric micronucleus frequencies in human populations after chronic radiation exposure. *Mutagenesis* 1999 Jul;14{4}:427-32
87. Vral A, Thierens H, De Ridder L. In vitro micronucleus-centromere assay to detect radiation-damage induced by low doses in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 1997 Jan;71{1}:61-8
88. Pijaja A. Variegated Aneuploidy Related to Premature Centromere Division (PCD) Expressed in vivo and is Cancer-prone Disease. *Med Genet.* 1998.
89. Moore L, Warner M, Smith A, Kalman D, Smith M .Use of the fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. *Environ Mol Mutagen* 1996;27{3}:176-84
90. Thierens H, Vral A, de Ridder L, Touil N, Kirsch-Volders M, Lambert V, Laurent C Inter-laboratory comparison of cytogenetic endpoints for the biomonitoring of radiological workers. *Int J Radiat Biol* 1999 Jan;75{1}:23-34.

91. Fenech M, Perepetskaya G, Ludmila M. A more comprehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations- Experiences from the Chernobyl catastrophe. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 1997; 30: 112-118.
92. Bolognesi C, Merlo F, Rabboni R, Valerio F, Abbondandolo A: Cytogenetic biomonitoring in traffic police workers: micronucleus test in peripheral blood lymphocytes *Nucl.Med Biol.* 1997 Jul;24(5):413-6
93. Bullock L. *Adaptations and alterations in function Pathophysiology*. Fourth edition 1996 editorial Lippincott
94. Cebulska-Wasilewska A. Correlation between DNA and cytogenetic damage induced after chemical treatment and radiation. *Mutat. Res.* 1998.421(1): 83-91.
95. Charles W, Laura C. Measurement of low levels of X-ray mutagenesis in relation to human disease *Proc. Natl.Acad Sci Vol 83 Jul. 1983* 4839-4843.
96. Fenech M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method *Mutat. Res-* 392 1997.11-18
97. Fenech M. A mathematical model of the *in vitro* micronucleous assay predicts false negative results if micronuclei are not specifically scored in binucleated cells or in cells that have completed one nuclear division *Env.*
98. Jostes R. Genetic, cytogenetic, and carcinogenic effects of radon: a review. *Mutat. Res.* 340 1996. 125-139.
99. Kirsh-Volders M. Inclusion of micronuclei in non divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes *Mutagenesis vol 16 no. 1.2001.* 51-58
100. Kormos C., Koteles G.J. Micronuclei in X irradiated human lymphocytes *Mutat. Res.* 199.1988. 31-35.
101. Paillole N, Voisin P. Is micronuclei yield variability a problem for overexposure dose assessment to ionizing radiation? *Mutat. Res.* 413 .1998. 47-56
102. Peace E. Spontaneous micronucleus frequency and age: what are normal values? *Mut. Res.* 425 1999.225-230.
103. Ramirez M. Low persistence of radiation-induced centromere positive and negative micronuclei in cultured human cells *Mutat. Res.* 440. 1999. 163-169
104. Streffer C, Muller W. Micronuclei- biological indicator for retrospective dosimetry after exposure to ionizing radiation. *Mutat. Res.* 404.1998. 101-105
105. Surralés J, Antoccia A. The effect of cytochalasin-B concentration on the frequency of micronuclei induced by four standard mutagens. Results from two laboratories. *Mutagenesis vol 9 no. 4 .1994.* 347-353.
106. Tallon I, Vershaeve L, Kirsh Volders M. Cell cycle dependent aneuploidy induction by X-Rays *in vitro* in human lymphocytes. *Microsc. Res. Tech.* 1998 Mar1;40(5)344-53
107. Thierens H. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. *Mutagenesis*, 15(3): 2000. 245-249.
108. Tung-Kwang L. Effect of blood storage on radiation-induced micronuclei in human lymphocytes. *Mutat. Res.* 444.1999. 201-206.
109. Uma D. A method to score micronuclei *in vivo* using cytochalasin B-induced cytokinesis block. *Mutat. Res.* 401.1998. 33-37.

110. Vogel F, Motulsky A. Human Genetics. Problems and approaches. Springer-Verlag, Germany. 1997
111. Underger U. Use of alkaline comet assay to monitor DNA damage in technicians exposed to low-dose radiation. *J. Occup. Environ. Med.*, 1999;41(8):693-8.
112. Lloyd D. Chromosomal analysis to assess radiation dose. In radiation injury and the Chernobyl catastrophe, *Stem Cells* 1997;15: 195-201.
113. Minissi S. Effect of cytochalasin B on the induction of chromosome missegregation by concichine at low concentrations in human lymphocytes mutagenesis Vol 14 No. 1, 1999,43-49.
114. Bonassi S, Forni A, Bigatti P, Canevarollo N, De Ferrari M, Lando C, Padovani P, Bevegni M, Stella M, Vecchio D, Puntoni R. Chromosome aberrations in hospital workers: evidence from surveillance studies in Italy (1963-1993). *Am J Ind Med* 1997 Mar;31(3):353-60
115. Paz-y-Mino C, Leone P, Chavez M, Bustamante G, Cordova A, Gutierrez S, Penaherrera M, Sanchez M. Follow up study of chromosome aberrations in lymphocytes in hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat Res* 1995 Dec;335(3):245-51
116. Touil N, Elhajouji A, Thierens H, Kirsch-Volders M. Analysis of chromosome loss and chromosome segregation in cytokinesis-blocked human lymphocytes: non-disjunction is the prevalent mistake in chromosome segregation produced by low dose exposure to ionizing radiation. *Mutagenesis* 2000 Jan;15(1):1-7.
117. MacGregor T. Clastogen- induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: The basis of an improved micronucleus test. *Environmental Mutagenesis* 1980. 2:509-514.
118. Schlegel R, MacGregor T. The persistence of micronuclei in peripheral blood erythrocytes: detection of chronic chromosome breakage in mice. *Mutat Res* 1982. 104:367-369.
119. NOM-012-STPS-1999 .
120. NOM-017-STPS-1993 .
121. NOM-026-NUCL-1999.

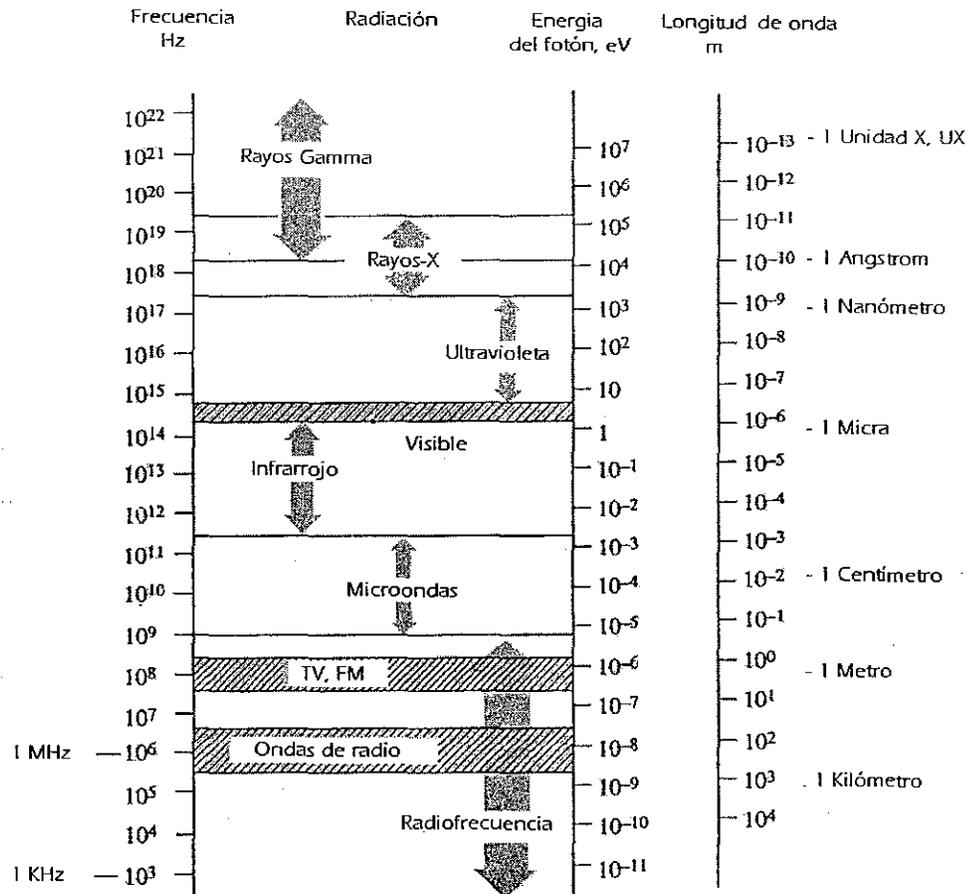
## GLOSARIO

- *Anafase: Tercera etapa de la mitosis o de la meiosis (I o II) durante la cual los cromosomas migran hacia los polos opuestos de la célula.*
- *Aneuploidía: Numero cromosómico el cual no es múltiplo del numero haploide.*
- *Aneuploidógeno: Agente capaz de producir en la célula que uno o mas cromosomas completos de un conjunto normal falten o se presenten mas de una vez.*
- *Autosómas: Cromosomas que no son los sexuales. La especie humana tiene 22 pares de autosómas y un par de cromosomas sexuales.*
- *Carcinógeno: Cualquier agente que produce cáncer.*
- *Cariotipo: complemento cromosómico de un individuo.*
- *Centrómero: Pequeña masa de cromatina situada en el interior de un cromosoma y a la que se unen las dos cromátides. El centrómero ocupa una posición característica en todo cromosoma. Es la ultima parte del cromosoma que se divide y por medio de la cual se fija al uso.*
- *Clastógeno: Agente capaz de inducir aberraciones cromosómicas.*
- *Cromosoma: Cuerpos constituidos por ADN incluido dentro de una trampa proteica; son los portadores de la información genética. Se hallan en el núcleo de la célula y pueden observarse como estructuras intensamente teñidas en forma de bastón, durante la división celular.*
- *Endorreduplicación: Proceso por el cual los cromosomas se duplican sin ocurrir división celular.*
- *Especificidad: Probabilidad de clasificar correctamente a aquellos que no tienen la característica de interés.*
- *Genotóxico: Agente que daña al ADN.*
- *Haploide: Cantidad de material cromosómico de un gameto. Equivale a la mitad de una célula somática.*
- *Micronúcleo: fragmento o cromosoma completo que por no poseer huso mitótico no puede ser integrado al núcleo, por lo que queda en el citoplasma celular.*
- *Mitógeno: Sustancia que estimula la mitosis de las células.*
- *Mitosis: División ecuacional de una célula con la formación de dos células hijas con la misma cantidad de cromosomas que la célula madre.*
- *Mutación: Cambio permanente y heredable del material genético. Definido comúnmente como un cambio en un solo gen (mutación en un punto), aun cuando el termino se usa también para designar un cambio en el numero o disposición de los cromosomas.*
- *Sensibilidad: Probabilidad de clasificar correctamente a aquellos que tienen la característica de interés.*
- *Radiación: Fenómeno que consiste en la emisión y propagación de energía a través del espacio.*

## ANEXOS

1. Espectro electromagnético.
2. Efectos corporales provocados por dosis radiactivas agudas.
3. Aprobación del Comité de Ética e Investigación del Hospital Civil.
4. Hoja de captación de datos laborales del POE.
5. Hoja de captación de datos epidemiológicos en la toma de muestras del POE.
6. Hoja de captación de datos epidemiológicos de los controles.
7. Hoja de consentimiento de participación voluntaria, tanto para POE como para controles.
8. Técnica de Biometría Hemática.
9. Técnica de Cromosomas.
10. Técnica de Micronúcleos.

## Espectro electromagnético



Esquema correspondiente al espectro electromagnético, donde se observa el gradiente de las frecuencias y la longitud de onda.

Resumen de los efectos corporales de dosis agudas de radiación ionizantes. (Dr. L. Hathway : U.S. Navy).

EFECTOS	A dosis de 1.0 - 2.0 Sv	A dosis de 2.0 - 6.0 Sv	A dosis de 6.0 - 10.0 Sv	A dosis de 10.0 - 50.0 Sv	A dosis > 50 Sv
Vomito	1.0 (5%) 2.0 (50%)	3.0 (100%)	100%	100%	100%
Se presenta en	3 hr.	2 hr.	1 hr.	30 min.	30 min.
Órgano afectado	TH	TH	TH	Gastrointestinal	Nervioso central
Signos característicos	L. Moderada	L. Severa, infección y hemorragia *	*	* Diarrea y fiebre	* Convulsiones, temblores y ataxia
Periodo crítico	—	4-6 Semanas	4-6 semanas	5-14 días	1-48 hr.
Terapia	Vigilancia hematológica	Transfusión sanguínea	Trasplante de médula ósea	Balance electrolítico	Sedantes
Pronóstico	Excelente	Buena	Cauteloso	Sin esperanza	Sin esperanza
Recuperación	Semanas	1-12 meses	Años	—	—
Incidencia de muerte	Ninguna	0 - 80%	80 - 100%	90 - 100%	100%
Muere en	—	2 meses	2 meses	2 semanas	2 días
Complicación	—	Hemorragia e infección	Hemorragia e infección	Colapso circulatorio	Falla respiratoria y edema cerebral

L: leucopenia

TH: Tejido hematopoiético

\* Leucopenia severa, infección y hemorragia



## HOSPITAL CIVIL DE GUADALAJARA

Agosto 04, 2000.

SUBDIRECCION  
DE ENSEÑANZA  
E INVESTIGACION  
ANTIGUO HOSPITAL  
CIVIL DE  
GUADALAJARA

A QUIEN CORRESPONDA:

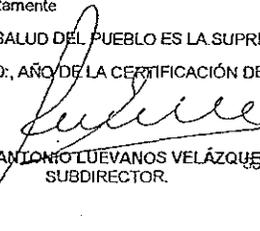
Por el presente me permito comunicar a usted que el Comité de Ética esta integrado por la siguiente personal una vez analizado el Protocolo, "Identificación de Daño Genético Mediante Micronucleos y Dosimetría Cromosomica en Personal Expuesto a Radiaciones Ionizantes del Hospital Civil de Guadalajara", por el Comité de Ética e Investigación de este Hospital Civil de Guadalajara ha tenido la aprobación sin modificaciones para que se realice dicho Protocolo de Investigación. el Comité de Ética e Investigación de este Hospital Civil de Guadalajara integrado por las personalidades: **Dr. Oscar Aguirre Jaúreguí** Director del H.C.G., (Cirujano Pediatra), **Dr. Martín Vargas Magaña** Subdirector de Servs. Aux. de Diag. Trat. y Paramédico, (Cirujano General), **Dr. Antonio Luévanos Velázquez** Subdirector de Enseñanza, (Pediatra Infectólogo) **Lic. Jorge Cervantes López** Subdirector Administrativo (Contador Público), **Dr. Fernando Petersen Aranguren** Jefe de la División de Medicina, (Médico Cardiólogo), **Dr. Horario Padilla Muñoz** Jefe de la División de Pediatría, (Cirujano Pediatra), **Dr. Francisco Alfaro Baeza** Jefe de la División de Gineco-Obstetricia, (Gineco-Obstetricia), **Dr. Mario Rivas Souza** Jefe de Medicina Forense, (Médico Forense), **Dr. Francisco Sandoval Virgen** Jefe de la División de Cirugía, (Cirujano de Torax y Cardio Vascular), **Dr. Héctor Macías Reyes** Jefe de la División de Paramédicos, (Médico Otorrinolaringólogo), **Sor Estheia Primero Hernández** Jefe de Enfermería, (Enfermera General), **Padre Macario Torres González** Vocal, (Sacerdote), **Ma. Eugenia Quezada de Martínez** Patronato de Damas del Voluntaria, (Ama de Casa).

Sin otro particular por el momento, me despido de usted enviándole un cordial saludo y felicitándolo a su vez por su participación en la realización de esta investigación.

Atentamente

"LA SALUD DEL PUEBLO ES LA SUPREMA LEY"

"2000, AÑO DE LA CERTIFICACIÓN DE LA COBERTURA"

  
DR. ANTONIO LUEVANOS VELÁZQUEZ  
SUBDIRECTOR.

  
SUBDIRECCION DE ENSEÑANZA  
E INVESTIGACION

cp. Archivo.  
\*blfr.

Hospital No. 275  
Guadalajara 44260  
Jalisco, México  
Teléfono:  
613-3951  
Commutador:  
614-5501  
Ext. 162 - 255  
614-7501

## DATOS GENERALES

Nombre _____	Registro # _____
Dirección: _____	
Teléfono del trabajo _____	Particular _____
Edad _____	Peso _____
Sexo	H ( ) M ( )
Nivel de estudios y área de desempeño profesional _____	
_____	

## DATOS LABORALES

Servicio o área de adscripción:

 Medicina Nuclear Radioterapia Rayos X Otra

(especificar) \_\_\_\_\_

A partir de

Fecha): \_\_\_\_\_

Su desempeño es como:

 Especialista Médico general Técnico Auxiliar Enfermero

otro \_\_\_\_\_

Favor de especificar brevemente sus labores

\_\_\_\_\_

Turno:

 Matutino Vespertino Nocturno Otro

(especificar) \_\_\_\_\_

Horario \_\_\_\_\_

Fechas del último periodo vacacional. \_\_\_\_\_

Actividades de capacitación laboral en los últimos tres años.

Nombre del curso, evento o actividad.	Fechas	Duración (días)	Especificar

Nombre _____	Fecha _____
--------------	-------------

**PERFIL EPIDEMIOLOGICO**

Favor de especificar si ha recibido algún tipo de diagnóstico o tratamientos en los últimos seis meses (de ser posible mencionar tiempo, inicio y esquema):

Radio-diagnóstico	si ____ no ____
Observaciones _____	
Radioterapia	si ____ no ____
Observaciones _____	
Quimioterapia	si ____ no ____
Observaciones _____	

Favor de señalar si es consumidor de lo siguiente:

Medicamentos	si ____ no ____
Anticonceptivos hormonales (En caso de ser mujer)	si ____ no ____

Especificar tipo y dosis: \_\_\_\_\_

Bebidas alcohólicas	si ____ no ____
---------------------	-----------------

Especificar frecuencia, cantidad por semana y edad de inicio: \_\_\_\_\_

Tabaco	si ____ no ____
--------	-----------------

Especificar cajetillas por semana y edad de inicio (ya sea de consumo o exposición): \_\_\_\_\_

Cafeína	si ____ no ____
---------	-----------------

Especificar a cuanto asciende el consumo por semana y edad de inicio: \_\_\_\_\_

Vitaminas y/o complementos alimenticios	si ____ no ____
---	-----------------

Especificar tipo y cantidad: \_\_\_\_\_

Favor de señalar si tiene contacto constante con algunos solventes, pesticidas, fertilizantes y/o combustibles

	si ____ no ____
--	-----------------

Especificar tipo y frecuencia de exposición: \_\_\_\_\_

Señale con una X la frecuencia en la que consume los siguientes alimentos y productos:

	<i>Minima</i>	<i>Moderada</i>	<i>Abundante</i>
Enlatados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Embutidos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frutas y verduras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Carne	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Observaciones o comentarios: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nombre: _____	Fecha _____
Dirección: _____	
Teléfono del trabajo _____	Particular _____
Edad _____	Peso _____
	Sexo H ( ) M ( )

### PERFIL EPIDEMIOLOGICO

Favor de especificar si ha recibido algún tipo de diagnóstico o tratamientos en los últimos seis meses (de ser posible mencionar tiempo, inicio y esquema):

Radio-diagnóstico	si _____ no _____
Observaciones _____	
Radioterapia	si _____ no _____
Observaciones _____	
Quimioterapia	si _____ no _____
Observaciones _____	

Favor de señalar si es consumidor de lo siguiente:

Medicamentos	si _____ no _____
Anticonceptivos hormonales (En caso de ser mujer)	si _____ no _____
Especificar tipo y dosis: _____	

Bebidas alcohólicas.	si _____ no _____
Especificar frecuencia, cantidad por semana y edad de inicio. _____	

Tabaco	si _____ no _____
Especificar cajetillas por semana y edad de inicio (ya sea de consumo o exposición) _____	

Cafeína	si _____ no _____
Especificar a cuanto asciende el consumo por semana y edad de inicio _____	

Vitaminas y/o complementos alimenticios	si _____ no _____
Especificar tipo y cantidad _____	

Favor de señalar si tiene contacto constante con algunos solventes, pesticidas, fertilizantes y/o combustibles

	si _____ no _____
Especificar tipo y frecuencia de exposición _____	

Señale con una X la frecuencia en la que consume los siguientes alimentos y productos:

	<i>Mínima</i>	<i>Moderada</i>	<i>Abundante</i>
Enlatados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Embutidos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frutas y verduras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Carne	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Observaciones o comentarios \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
M EN C DE LA SALUD AMBIENTAL  
CUCS-CUCBA  
LABORATORIO DE GENETICA HUMANA  
CUCS

Guadalajara, Jal. a \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

### CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Titulo del proyecto de tesis: "Análisis y determinación del daño genético-ambiental de las radiaciones ionizantes en el personal ocupacionalmente expuesto del Hospital Civil de Belén en Guadalajara, Jal., 2000-2001".

Por este conducto acepto mi participación de manera voluntaria en el estudio antes mencionado, habiendo sido informado de los beneficios y riesgos que esto implica en el entendido que:

- a) La evaluación de los métodos de micronúcleos de mucosa oral y de daño cromosómico, tienen como propósito fundamental analizar su utilización para su posible validación como método de biomonitorio complementarios a la disimetría física.
- b) En este estudio, a las muestras no les someterá a ningún estudio donde se viole la integridad genética
- c) Acepto donar al menos una muestra de células de mucosa oral y de sangre periférica, ya sea como parte del personal expuesto a radiaciones ionizantes o como individuo control.
- d) El máximo daño recibido es bajo y correspondería a los riesgos inherentes a una punción venosa de rutina para la obtención de sangre periférica.
- e) La información otorgada y los resultados de las pruebas es confidencial con fines de investigación científica.
- f) Podré ser informado al final de la investigación respecto a los resultados de las pruebas de biomonitorio evaluadas y sus implicaciones preliminares.
- g) Los resultados de la presente investigación no pueden ser utilizados con fines laborales o de otra índole que no sea el conocimiento y validación de los métodos de biomonitorio considerados.
- h) Es probable que se requiera realizar mas de una toma de células de mucosa bucal y/o de sangre periférica para confirmar las pruebas.
- i) No obstante sus beneficios, podré libremente y en cualquier momento abandonar mi participación en el presente estudio previa notificación.
- j) Acepto que los resultados de la presente investigación pueden ser utilizados con fines de enseñanza y/o divulgación científica.

ATENTAMENTE

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del participante

## TECNICA DE BIOMETRIA HEMATICA

Antes de tomar la muestra se limpia la zona a puncionar con una torunda con alcohol, se obtiene sangre por venopunción (4 ml) en un tubo con EDTA. (En este trabajo se utilizó el equipo ABX PENTRA 120). Donde se introducen las muestras y se obtienen los resultados correspondientes a:

- Hemoglobina.
- Hematocrito.
- Concentración media.
- Plaquetas
- Reticulocitos.
- Diferencial.

## TECNICA DE PREPARACIÓN DE CROMOSOMAS.

Al igual que el anterior se limpia la zona a puncionar con isodine espuma y una torunda con alcohol (esta, se realiza en un área libre, no contaminada por corrientes de aire y cerca de un mechero) donde se obtienen de 5 ml de sangre con jeringa heparinizada (0.1 ml de heparina estéril). En este estudio las muestras de cada individuo se dividieron en dos partes, una de ellas se mantuvo siempre en su estado basal y la otra se indujo a radiación mediante un Theratron Phonix cobalto 60 (NPTT Neutron Products Inc.) posteriormente, a ambas partes se les preparo para su respectiva siembra.

La siembra se realiza en una campana de flujo laminar (Veco SM), a cada tubo de cultivo estéril de vidrio o polipropileno, se le agrega 6 a 8 ml de 1/2 de cultivo RPMI 1640, Sigma, previamente adicionado fitohemaglutinina con las concentraciones finales por cultivo de .25 ml y una gota de solución de trabajo de antibiótico. Al tubo con el medio, se le agrega el medio 8 gotas de sangre total, descartando las 2 primeras gotas de sangre. Posteriormente, se sella el tubo y se agita suavemente y se incuba en la estufa (She-Lab 2100) de cultivo a 37°C durante 72hrs.

Al concluir las 72 hrs. de cultivo, se procede a sacar los tubos de la estufa de incubación, para comenzar con la cosecha. Se agita suavemente cada cultivo y se añaden 0.1 ml de colchicina Sigma (2 gotas) se agita y se incuba por 45 minutos a 37°C. Los cultivos se vierten a tubos cónicos y se centrifugan a 1000 rpm durante 10 min. Donde se decanta el sobrenadante.

Se resuspende el botón golpeando suavemente y se agrega 4 ml de solución de KCL 0.075 M a 37°C, inmediatamente se coloca una pipeta Pasteur hasta el fondo del tubo para generar burbujas con suavidad y se afora a 10 ml. Se deja reposar la suspensión durante 18 min. a 37°C. Se vierte una fase superior a 1 ml de solución fijadora de Carnoy y nuevamente se centrifuga a 1000 rpm. durante 10 min.

Se decanta y se resuspende el botón y se agita en el vortex, agregándose gota a gota solución de Carnoy hasta aforar a 10 ml se deja reposar la suspensión de 15-20 min. a temperatura ambiente, se centrifuga 10 min. a 1000 rpm. Se repite el anterior paso hasta obtener un botón blanco nuboso y finalmente se decanta y se agrega solución de Carnoy en proporción al tamaño del botón de células (0.5-1.5 ml).

En la preparación de laminillas, estas se limpian previamente en solución de etanol al 70%, deslizándolas en 2 ocasiones a través de una gasa limpia. Se coloca sobre papel húmedo y se depositan 2 gotas de la suspensión en diferentes sitios, se deja secar a temperatura ambiente.

Se observa al microscopio óptico en contraste de fases con la finalidad de ver la calidad del cultivo y posteriormente se cubren (Se preparan 6 laminillas por caso). Una vez secas, se colocan en una gradilla y se protegen del polvo, sin exceder de 7 días para realizar bandedo GTG. Al botón sobrante se le agrega una solución fijadora y se conserva en refrigeración, para la preparación posterior de más laminillas.

## TECNICA DE MICRONÚCLEOS MUCOSA BUCAL.

Cada persona participante se enjuaga la boca enérgicamente con agua, con un portaobjeto se raspa la mucosa bucal (derecha e izquierda) y se realizan los extendidos sobre dos portaobjetos. Los frotos se dejan secar al aire, se fijan con metanol al 80% por 48 horas para proceder a la tinción.

Utilizando el kit de tinción de Grifold, las laminillas se introducen en la solución ácida durante 3 minutos, de igual forma se introducen al agente de tinción o colorante básico por dos minutos y se enjuagan con agua corriente para eliminar el exceso de colorante.

Las laminillas se inspeccionan con un microscopio óptico (Zeiss Axiolab HBO50) con el objetivo de 100X. (El análisis de laminillas lo realizó una persona para reducir los sesgos en la observación) se observa hasta alcanzar un número de 2000 células por individuo y se registran las células con las siguientes características (fig 19.20,21):

1. Células micronucleadas
2. Picnosis.
3. Cariorrexis.
4. Cariolisis.
5. Cromatina anormalmente condensada.
6. Núcleo lobulado
7. Binucleación.