



# **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

---

## **ESCUELA NACIONAL DE MEDICINA Y HOMEOPATÍA SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

### **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SALUD OCUPACIONAL, SEGURIDAD E HIGIENE**

#### **ESTUDIO DE LOS DAÑOS EN EL ADN DE LOS TECNICOS EXPUESTOS A RAYOS X**

#### **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
EN SALUD OCUPACIONAL, SEGURIDAD E HIGIENE

**PRESENTA:**

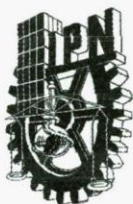
**HELEN SANTIAGO LABRA**



**DIRECTORES DE TESIS**

**DRA. EN C. ROSA ISELA ALVAREZ GONZALEZ  
DR. EN C. JOSE WAIZEL BUCAY**

**MÉXICO, D.F., 2010**



# INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

## SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

### ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 18:40 horas del día 24 del mes de noviembre del 2009 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de La E. N. M. y H. para examinar la tesis titulada:

**“ESTUDIO DE LOS DAÑOS EN EL ADN DE LOS TÉCNICOS EXPUESTOS A RAYOS-X”**

Presentada por el alumno:

**SANTIAGO**

**LABRA**

**HELEN**

Apellido paterno

materno

nombre(s)

Con registro: 

B	0	7	1	8	1	2
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: Maestría en ciencias en Salud Ocupacional, Seguridad e Higiene

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

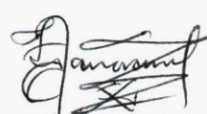
#### LA COMISION REVISORA

#### DIRECTORES DE TESIS

  
Dr. en C. JOSÉ WAIZEL BUCAY

  
Dra. en C. ROSA ISELA ALVAREZ GONZÁLEZ

  
Dr. en C. CÉSAR AUGUSTO SANDINO REYES LÓPEZ

  
Dr. en C. ABSALOM ZAMORANO CARRILLO

  
M. en C. ENRIQUE LÓPEZ HERNÁNDEZ

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA

Dr. en C. CÉSAR AUGUSTO SANDINO REYES LÓPEZ

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
ESCUELA NACIONAL DE MEDICINA  
Y HOMBOPATIA  
REGION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
E INVESTIGACION





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de México D.F. el día 11 del mes Mayo del año 2010, la que suscribe: **Helen Santiago Labra**, alumna del Programa de Maestría en Ciencias en Salud Ocupacional, Seguridad e Higiene con número de registro B071812, adscrito a la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. en C. Rosa Isela Álvarez González y el Dr. en C. José Waizel Bucay y cede los derechos del trabajo intitulado “Estudio de los daños en el ADN de los técnicos expuestos a rayos X”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección electrónica: [hesanymx@yahoo.com](mailto:hesanymx@yahoo.com). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

**Helen Santiago Labra**

## **AGRADECIMIENTOS**

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos, Papi y Agüeita, sin importar en dónde estén quiero agradecerles por haber formado parte de mi vida, por todo lo que me brindaron y por todas sus bendiciones.

Mami, gracias por todo tu apoyo, tu esfuerzo y por la confianza que siempre depositaste en mí, eres la mejor mami del mundo. Sabes que te quiero y eres importante en mi vida.

Tía Veva, deseo expresarte que mis ideales, esfuerzos y logros son también tuyos por todos los días que me dedicaste y por la guía que me diste durante mi infancia, esto constituye el legado más grande que pudiera recibir. Con cariño, admiración y respeto.

Chicharito, mi esposo, por tu gran ayuda y comprensión tanto en el ámbito personal como en el profesional, por tu tiempo estudiando conmigo, por la confianza que me brindaste durante la licenciatura y ahora con la maestría y por acudir en mi auxilio en los momentos más difíciles, por eso y muchas cosas más te quiero mucho.

A Guadalupe Razo, gracias por compartir tus conocimientos y por el tiempo que dedicaste a este trabajo.

Un agradecimiento especial a mis directores de tesis, Dra. Rosa Isela Álvarez, con quien llegué por obra del destino y, que junto con el Dr. Eduardo Madrigal, me recibieron y brindaron su apoyo de manera incondicional; y al Dr. José Waizel, quien con paciencia y sabiduría supo guiarme por este proceso tan complicado.

A las personas que me ayudaron de manera práctica en este trabajo de investigación, principalmente a los técnicos de rayos X, a quienes pertenece realmente esta tesis, gracias.

A todos y cada uno de mis sinodales:

M. en C. Enrique López Hernández  
Dr. en C. Juan Manuel Araujo  
M. en C. Jorge Torres González

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Genética de la Escuela Superior de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.

## Índice general

<b>GLOSARIO.....</b>	<b>12</b>
<b>GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>20</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>21</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>22</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>23</b>
Justificación.....	26
Objetivos.....	27
<b>I. ANTECEDENTES.....</b>	<b>28</b>
1.1 Unidades de medición.....	31
1.2 Límites anuales de dosis.....	31
1.3 Sistemas biológicos de prueba.....	35
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>37</b>
2.1 Efectos biológicos de las radiaciones.....	38
2.1.1 Efectos a nivel celular.....	38
2.1.2 Efectos sobre el organismo.....	40
2.1.2.1 Efectos determinísticos.....	40
2.1.2.2 Efectos estocásticos.....	41
2.2 Genética toxicológica.....	42
2.2.1 Efectos adversos de las mutaciones.....	43
2.2.2 Teratogénesis y carcinogénesis.....	44
2.2.3 Efectos de la irradiación durante el periodo embrionario y fetal.....	44
2.3 Seguridad y salud en el trabajo.....	45
2.4 Usos de las radiaciones.....	47
2.4.1 Usos médicos.....	47
2.4.1.1 Para el diagnóstico médico.....	47
2.4.1.2 Para el tratamiento médico.....	48
2.4.2 Usos industriales.....	48
2.4.3 Usos agroalimentarios.....	49

<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
<b>3.1 Materiales.....</b>	<b>50</b>
3.1.1 Criterios de inclusión.....	50
3.1.2 Criterios de exclusión.....	51
<b>3.2 Métodos.....</b>	<b>51</b>
3.2.1 Recolección de muestras.....	51
<b>3.3 Desarrollo.....</b>	<b>52</b>
3.3.1 Prueba de micronúcleos.....	52
3.3.2 Electroforesis unicelular.....	52
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
4.1 Historia clínica.....	54
4.2 Prueba de micronúcleos en mucosa oral.....	60
4.3 Electroforesis unicelular en leucocitos de sangre	
Periférica.....	62
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>65</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>73</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>74</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>75</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1: Radiosensibilidad de algunos tipos celulares importantes en el organismo.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 2: Límites anuales de dosis.....</b>	<b>33</b>
<b>Tabla 3: Resumen de la historia clínica del personal expuesto a rayos X excluido del estudio.....</b>	<b>54</b>
<b>Tabla 4: Resumen de la historia clínica del personal expuesto a rayos x incluidos en el estudio.....</b>	<b>56</b>
<b>Tabla 5: Resumen de la historia clínica del personal no expuesto a rayos X no incluidos en el estudio.....</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 6: Resumen de la historia clínica del personal no expuesto a rayos X incluidos en el estudio.....</b>	<b>59</b>



## Índice de gráficas

<b>Gráfica 1: Frecuencia de micronúcleos en células de la mucosa oral.....</b>	<b>60</b>
<b>Gráfica 2: Frecuencia de micronúcleos en células de la mucosa oral de acuerdo al tiempo de exposición.....</b>	<b>61</b>
<b>Gráfica 3: Relación de electroforesis unicelular de leucocitos provenientes del grupo control y del grupo de estudio.....</b>	<b>62</b>
<b>Gráfica 4: Ensayo cometa en trabajadores expuestos a rayos X. Prueba “T de Student” .....</b>	<b>63</b>
<b>Gráfica 5: Análisis de varianza bifactorial.....</b>	<b>64</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1: Espectro electromagnético.....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 2: Diferentes tipos de radiación y su capacidad de penetración.....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 3: Partes de la célula.....</b>	<b>38</b>
<b>Figura 4: Imagen en doble hélice del ADN.....</b>	<b>39</b>



## GLOSARIO

<b>Aberraciones cromosómicas</b>	Anomalías en el conjunto cromosómico, pueden ser numéricas (variaciones de su número) o estructurales (modificaciones en la forma).
<b>Ácido desoxirribonucleico</b>	Por sus siglas ADN, es un tipo de ácido nucleico, una macromolécula que forma parte de la mayoría de las células. Contiene la información genética usada en el desarrollo y el funcionamiento de los organismos vivos conocidos y de algunos virus, siendo el responsable de su transmisión hereditaria.
<b>Ácido nucleico</b>	Son macromoléculas, polímeros formados por la repetición de monómeros llamados nucleótidos, unidos mediante enlaces fosfodiéster. El descubrimiento de los ácidos nucleicos se debe a Miescher que en la década de 1860 aisló de los núcleos de las células una sustancia ácida a la que llamó <i>nucleína</i> , nombre que posteriormente se cambió a ácido nucleico.
<b>Alcaloide</b>	Nombre genérico de las sustancias orgánicas nitrogenadas de carácter básico, de origen vegetal fundamentalmente y de estructura química muy variada y compleja que a dosis muy bajas tienen en general marcados efectos fisiológicos sobre el hombre y los animales.
<b>Apoptosis</b>	Muerte celular programada que incluye la fragmentación del ADN nuclear.
<b>Aneuploidógenos</b>	En genética, el término aneuploidía hace referencia a cambios en el número de cromosomas, que pueden dar lugar a enfermedades genéticas. La aneuploidía se puede observar frecuentemente en células cancerosas. En los animales sólo son viables las monosomías y las trisomías, ya que las nulisomías son letales en individuos diploides.
<b>Átomo</b>	Parte menor invisible física y químicamente que junto con otras u otras de su especie constituye la molécula.

<b>Autocatalítica</b>	Sistema en donde las partes se autoproducen, en un ciclo de autoregeneración progresiva para mantener el funcionamiento de este, generando un sistema cerrado cualitativamente sin que el sistema altere su imagen frente al entorno.
<b>Bioensayo</b>	Determinación de los efectos fisiológicos de una sustancia por medio de su administración a un organismo vivo.
<b>Biomarcador</b>	Los marcadores biológicos o biomarcadores son los cambios medibles, ya sean estos bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un tóxico. Se utilizan para: detectar la presencia de una exposición, determinar las consecuencias biológicas de la exposición, detectar los estados iniciales e intermedios de un proceso patológico, identificar a los individuos sensibles de una población y fundamentar la decisión de intervenir, tanto a nivel individual como ambiental.
<b>Cáncer</b>	Tumor maligno en general. La característica básica de la malignidad es una anomalía de las células transmitidas a las células hijas, se manifiesta por la reducción del control del crecimiento y la función celular, conduciendo a una serie de fenómenos adversos en el huésped, a través de un crecimiento masivo, invasión de tejidos vecinos y metástasis.
<b>Carcinogénesis o carcinogénesis</b>	Producción del cáncer.
<b>Carcinógenos</b>	Sustancia capaz de inducir un cáncer o degeneración neoplásica en los animales de experimentación o en el hombre.
<b>Células germinales</b>	Células reproductoras del cuerpo (óvulo y espermatozoide).
<b>Células somáticas</b>	Aquellas que forman el conjunto de tejidos y órganos de un ser vivo, procedentes de células madre originadas durante el desarrollo embrionario y que sufren un proceso de proliferación, diferenciación celular y apoptosis.

<b>Ciclo celular</b>	Periodo de tiempo que comprende la mitosis y la interfase de una célula.
<b>Célula eucariote</b>	Células que tienen su material hereditario fundamental (su información genética) encerrado dentro de una doble membrana, la envoltura nuclear, que delimita un núcleo celular.
<b>Clastógenos</b>	Agentes químicos que aumentan la velocidad de mutación genética interfiriendo en la función de los ácidos nucleicos. Un clastógeno es un mutágeno específico que causa ruptura en los cromosomas.
<b>Cromatina</b>	Conjunto de ADN, histonas y proteínas no histónicas que se encuentra en el núcleo de las células eucariotas y que constituye el cromosoma eucariótico.
<b>Cromosoma</b>	Nombre de los pequeños cuerpos en forma de bastoncillos en asa en que se divide la cromatina del núcleo celular en la mitosis, cada uno de los cuales se divide longitudinalmente, dando origen a dos asas gemelas perfectamente iguales, su número es constante para una especie determinada (en el ser humano, 46; de ellos, 44 autosómicos y 2 sexuales), y están constituidos por genes o factores dispuestos linealmente.
<b>Desnaturalizar</b>	Pérdida de las propiedades físicas y químicas propias de las proteínas por la acción de agentes llamados desnaturalizantes.
<b>Dosímetro</b>	Instrumento empleado para medición de los rayos X; cuantímetro.
<b>Efectos deterministas</b>	Son aquellos casos en los que la severidad del efecto es función de la dosis y se presentan a partir de un valor umbral.
<b>Efectos estocásticos</b>	Son aquellos casos en los que la probabilidad de que el efecto se presente se considera como una función de la dosis, sin que exista una dosis umbral y pueden manifestarse tanto en el individuo expuesto como en su descendencia.

<b>Electroforesis</b>	Método que permite separar determinados constituyentes de una solución coloidal, sometiéndolos a la acción de un campo eléctrico. Las partículas o micelas cargadas con electricidad positiva o negativa, emigran cada una hacia un polo opuesto a una velocidad diferente según su carga y dimensiones.
<b>Enfermedad de trabajo</b>	Todo estado patológico, derivado de la acción continuada de una causa que tenga su origen o motivo en el trabajo o en el medio en el que el trabajador se vea obligado a prestar sus servicios.
<b>Ensayo cometa (electroforesis unicelular)</b>	Prueba rápida, de bajo costo, permite detectar roturas de simple cadena y sitios lábiles a los álcalis, así como el análisis del daño genético al nivel de células individuales.
<b>Epitelio</b>	Capa celular que cubre todas las superficies externas e internas del cuerpo y se caracteriza por estar formada por células de forma y disposición variables sin sustancia intercelular ni vasos.
<b>Erg</b>	Unidad cegesimal del trabajo equivalente al desarrollado por 1 dina al recorrer 1 cm.
<b>Eritema</b>	Enrojecimiento en manchas o difuso de la piel, producido por la congestión de los capilares que desaparece momentáneamente por la presión.
<b>Eritrocitos</b>	Corpúsculo o glóbulo rojo de la sangre; hematíe.
<b>Fenotipo (trofoplasma)</b>	Conjunto de las propiedades manifiestas de un organismo, sean o no hereditarias.
<b>Fotón</b>	Partícula ( <i>quantum</i> ) elemental de luz.
<b>Genética toxicológica</b>	Disciplina científica que identifica y analiza la acción de los xenobióticos, capaces de interactuar con el material genético de los organismos. Su objetivo principal es detectar y explicar las propiedades de los agentes físicos y químicos genotóxicos que producen efectos hereditarios desde deletéreos hasta letales.
<b>Gen</b>	Unidad de material hereditario, que ocupa un <i>locus</i> en un cromosoma.

<b>Genotipo (plasma germinal)</b>	Constitución fundamental hereditaria de un organismo que resulta de una combinación particular de genes; idiotipo.
<b>Gray</b>	Unidad del Sistema Internacional de dosis de radiación absorbida. Es igual a 1 julio/kg y equivalente a 100 rads.
<b>Higiene Industrial o del Trabajo</b>	Es la técnica de mantener el equilibrio y bienestar físico de la salud, actuando para ello sobre el ambiente de trabajo como medida de prevención de las enfermedades profesionales
<b>Huso mitótico o acromático</b>	Figura fusiforme de fibras de cromatina en el núcleo celular en la cariocinesis.
<b>Ionización</b>	Formación de iones mediante la pérdida o incorporación de electrones en átomos o estructuras moleculares eléctricamente neutros.
<b>Lisis</b>	Defervescencia gradual de una enfermedad; crisis lenta. Disolución o destrucción de células o bacterias por las lisinas.
<b>Mecanismos de reparación del ADN</b>	Los daños en el ADN pueden ser reparados para mantener la integridad de la información genética, la importancia biológica de la reparación del ADN es evidente al encontrar múltiples mecanismos de reparación. Estos sistemas incluyen enzimas que simplemente revierten la modificación química, así como complejos enzimáticos más complicados que dependen de la redundancia de la información en la molécula de ADN duplex para reparar a la molécula.
<b>Micronúcleos</b>	Fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que se forman espontáneamente o por causa de agentes que rompen cromosomas.



<b>Microsoma</b>	Término ideado por el bioquímico francés A. Claude para designar uno de los productos de la ultracentrifugación de hígado triturado. Los <b>microsomas</b> hepáticos son células parenquimatosas de este órgano, que catalizan transformaciones metabólicas en su mayor parte, por enzimas del retículo endoplasmático. Formada por porciones de organelas como las membranas mitocondriales, las del aparato de Golgi (excretor) y del citoplasma, además de otras partículas. Son formaciones vesiculares o tubulosas, de 50 a 300. Estos microsomas contienen función oxidasa que dependen de la Citocromo P450.
<b>Mitosis</b>	División indirecta de las células germinativas y otras, que consiste en la separación ordenada de los cromosomas, duplicados previamente, para formar dos núcleos hijos. Consta de 4 fases: profase, metafase, anafase y telofase.
<b>Mutación (mutagénesis)</b>	Cualquiera de las alteraciones producida en la estructura o en el número de los genes o de los cromosomas de un organismo vivo que se transmiten a los descendientes por herencia.
<b>Neutrón</b>	Constituyente de las partículas elementales del núcleo atómico, carente de carga eléctrica.
<b>Oxidación</b>	Combinación de un elemento o cuerpo con el oxígeno. Desde el punto de vista químico, puede ser definida como la pérdida de uno o varios electrones por un elemento o compuesto químico, la pérdida de átomos de hidrógeno o la incorporación o adición de átomos de oxígeno.
<b>Polisacárido</b>	Hidrato de carbono que, como la celulosa y el almidón, está formado por la condensación de varios monosacáridos.
<b>Protón</b>	Núcleo electropositivo del átomo del hidrógeno ordinario.
<b>Queratinocitos</b>	Células epiteliales epidérmicas.

<b>Rad</b>	Unidad de la dosis de radiación absorbida por la materia y que produce la liberación por ionización de una cantidad de energía igual a 100 ergios por gramo de materia.
<b>Radiación</b>	Energía asociada a las ondas electromagnéticas (espectro visible, infrarrojo, ultravioleta) y emitida en forma de fotones. Energía emanada o emitida por el núcleo inestable de ciertos elementos (radio, uranio, etc) en forma de partículas alfa (núcleos de helio), partículas beta (electrones) o rayos gama.
<b>Radiación ionizante</b>	Es toda radiación electromagnética o corpuscular capaz de producir iones, directa o indirectamente, debido a su interacción con la materia.
<b>Radiación no ionizante</b>	Designa a la radiación electromagnética que no es capaz de producir iones, directa o indirectamente, incluye ondas de radio, microondas, radiaciones: láser, máser, infrarroja, visible y ultravioleta.
<b>Radiactividad</b>	Propiedad de ciertos cuerpos de emitir continua y espontáneamente rayos capaces de atravesar medios opacos a la luz, e impresionar placas fotográficas y hacer a los gases conductores de la electricidad.
<b>Radical libre</b>	Es un átomo, una molécula o un compuesto que contiene un electrón no apareado. Los radicales libres pueden ser eléctricamente neutros o cargados positiva o negativamente.
<b>Rayos catódicos</b>	Rayos desprendidos del cátodo de un tubo de Crookes, que llevan carga negativa y se mueven en línea recta. Por su choque con el anticátodo del tubo originan los rayos X.
<b>Silicosis</b>	Variedad de neumoconiosis debida a la inhalación de polvo, sílice. Enfermedad de los picapedreros o asma de los mineros.
<b>Soma</b>	Cuerpo, especialmente en oposición a la psique y también al plasma germinativo.
<b>Teratogénesis</b>	Mecanismo de producción de las malformaciones.

**Vincristina**

Alcaloide obtenido de la planta *Vinca rosea*, bloquea la mitosis celular con detención en la metafase, se emplea en ciertos tipos de neoplasias.

**Xenobiótico**

Compuestos externos a un organismo vivo que interaccionan con él, generalmente a través de alteraciones metabólicas

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS:**

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico.
<b>AHF</b>	Antecedentes heredofamiliares
<b>APNP</b>	Antecedentes personales no patológicos
<b>APP</b>	Antecedentes personales patológicos
<b>AR</b>	Artritis reumatoide
<b>CaCu</b>	Cáncer cervicouterino
<b>DM1 ó 2</b>	Diabetes mellitus tipo 1 ó tipo 2
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>Gy</b>	Gray
<b>HAS</b>	Hipertensión arterial sistémica
<b>IAM</b>	Infarto agudo al miocardio
<b>IRC's</b>	Insuficiencia renal crónica secundaria
<b>LFT</b>	Ley Federal del Trabajo
<b>M</b>	Molar
<b>mA</b>	Miliamperes
<b>mM</b>	Milimolar
<b>MN</b>	Micronúcleo
<b>mSv</b>	Milisievert
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sodio
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>R</b>	Roentgen
<b>Rx</b>	Rayos X
<b>S</b>	Sievert
<b>STPS</b>	Secretaría del Trabajo y Previsión Social
<b>Tx</b>	Tratamiento
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>V</b>	Volts
<b>µl</b>	Microlitro

## RESUMEN

Las radiaciones son fenómenos físicos consistentes en la emisión, propagación y absorción de energía por parte de la materia. Se clasifican en dos tipos: ionizantes y no ionizantes. Los efectos biológicos de las radiaciones pueden ser en primera instancia sobre las células. Se han desarrollado sistemas de prueba con el propósito de evaluar los efectos producidos por agentes químicos ambientales, a los que el hombre está expuesto, dentro de ellos se encuentran el ensayo cometa y la prueba de micronúcleos que son los estudios que se aplicaron en este trabajo. Los micronúcleos (MN) se forman a partir de fragmentos de cromosomas o cromosomas completos, que espontáneamente o por agentes externos sufren rupturas, o dañan el huso acromático. Su forma es generalmente redonda o almendrada, con un diámetro que varía desde 0.4 a 1.6 micras. La prueba de micronúcleos fue desarrollada por W. Schmid en 1975 y en el año de 1999, fue validada a nivel mundial y considerada como un biomarcador efectivo de daño en el ADN. La electroforesis de células individuales o ensayo cometa es una prueba rápida, de bajo costo y altamente sensible, permite el análisis del daño genético a nivel de células individuales. Se utiliza para monitoreo ambiental y análisis de sensibilidad a radiaciones. Esta técnica brinda información más precisa del nivel de daño al ADN. Los objetivos del presente estudio son determinar mediante las pruebas de electroforesis unicelular y micronúcleos; el efecto genotóxico producido por los rayos X en individuos expuestos laboralmente; determinar la cantidad de micronúcleos en células de la mucosa oral y el daño a su ADN por electroforesis unicelular y electroforesis unicelular modificada. Los casos o técnicos de rayos X son trabajadores del área de imagenología de un laboratorio de análisis clínicos localizado en la Ciudad de México, D.F., cuyas edades oscilan entre los 20 y 40 años, y con exposición de 1 hasta 20 años a los rayos X. El grupo control son personas residentes en la misma localidad, sin exposición a rayos X en su trabajo, cuyas edades y hábitos son similares a los del grupo de trabajadores expuestos a la radiación. El tamaño final del grupo fue de 14 personas expuestas y 9 controles. Los participantes contestaron un cuestionario sobre información personal de salud, antecedentes heredofamiliares, consumo de medicamentos, hábitos de alimentación así como historia de exposición laboral. (Anexo 1). Las muestras biológicas de mucosa oral se obtuvieron recolectando raspados de epitelio oral de cada uno de los colaboradores haciendo un frotis de la pared interna de ambas mejillas, que posteriormente se colocó en un portaobjetos. Las muestras de sangre se tomaron, en tubos heparinizados. Micronúcleos de epitelio oral: Se realizó mediante la técnica utilizada por Countryman y Heddle (1976). Ensayo cometa: Se realizó mediante la técnica de Singh *et al* (1998). Resultados: Se aplicó como método estadístico la Prueba "T de Student" para ambos casos. En la prueba de micronúcleos, con significancia en el límite para una cola, con  $p < 0.05$  y  $p < 0.1$  para dos colas. En el ensayo cometa, se obtuvo un alto nivel de significancia:  $p < .005$  para una cola y  $p < 0.01$  para dos colas. También se realizó un análisis de varianza bifactorial, el cual mostró que no hay diferencias significativas en el tiempo de exposición y los resultados obtenidos del ensayo cometa. Conclusiones: Los resultados muestran daño genómico inducido por radiaciones ionizantes. El ensayo cometa demostró tener mayor sensibilidad en comparación con la prueba de micronúcleos,

## ABSTRACT

The radiations are physical phenomena involving the emission, propagation and absorption of energy by matter. They are classified into two types: ionizing and non ionizing. The biological effects of radiation may be in first instance on cells. Test systems have been develop in order to evaluate the effects of environmental chemical agents, to which man is exposed, within them are the comet assay and micronucleus test, those tests are the ones we applied in this investigation. Micronucleus (MN) are formed from fragments of chromosomes or whole chromosomes, which spontaneously or by external agents suffer ruptures, or are damage the achromatic spindle. Its shape is usually round or almond like, with a diameter varying from 0.4 to 1.6 microns. W. Schmid develop the micronucleus test in 1975 and by the year 1999, was validated and considered worldwide as an effective biomarker of DNA damage. The single cell electrophoresis or comet assay is a rapid, low cost and highly sensitive test; it allows analysis of genetic damage at the level of individual cells. It is use for environmental monitoring and analysis of sensitivity to radiation. This technique provides precise information on the level of DNA damage. The aims of this study are determine by single cell electrophoresis tests and micronuclei, the genotoxic effect produced by X rays in occupationally exposed individuals, determine the number of micronuclei in oral mucosal cells and damage to their DNA by the single-cell electrophoresis test and modified single cell electrophoresis test. Cases or X-ray technicians are employees of the imaging area of a clinical laboratory, located in Mexico City, their age are between 20 and 40 years old, and have been exposed from 1 a 20 years to the X-rays. The control group is composed of persons of the same place of residence, without exposure to X-rays in their job, their ages and habits are similar to those of the group of workers exposed to radiation. The final size of the group was 14 cases and 9 controls. Participants answered a questionnaire on personal health information, family history records, drug consumption, diet habits and occupational exposure history to radiation. (Annex 1). Oral mucosa scrapings were due to collect the biological samples from oral epithelium of each of the employees making a smear of the inside of both cheeks, the samples were place on a slide. Blood samples were place in heparinized tubes. Micronuclei of oral epithelium: It was perform by the technique used by Countryman and Heddle (1976). The Comet assay: was performed using the technique of Singh et al (1998). Results: In the test of micronucleous, with significance in it limits to a tail with  $p < 0.05$  and  $p < 0.1$  to two tails. In the comet assay obtains a high level of significance:  $p < 0.005$  to one tail and  $p < 0.01$  to two tails. In addition, an analysis of bifactorial variance was realize and it shows us that there are no significant differences in the exposure time and the results obtained from comet assay. Conclusion: the results show genomic damage induced by ionizing radiations. The comet assay shows to be better than the micronucleous test.

# ESTUDIO DE LOS DAÑOS EN EL ADN DE LOS TÉCNICOS EXPUESTOS A RAYOS X

## INTRODUCCIÓN:

Las radiaciones son fenómenos físicos consistentes en la emisión, propagación y absorción de energía por parte de la materia. Existen dos tipos de radiaciones: ionizantes y no ionizantes (Brantan, 1995).

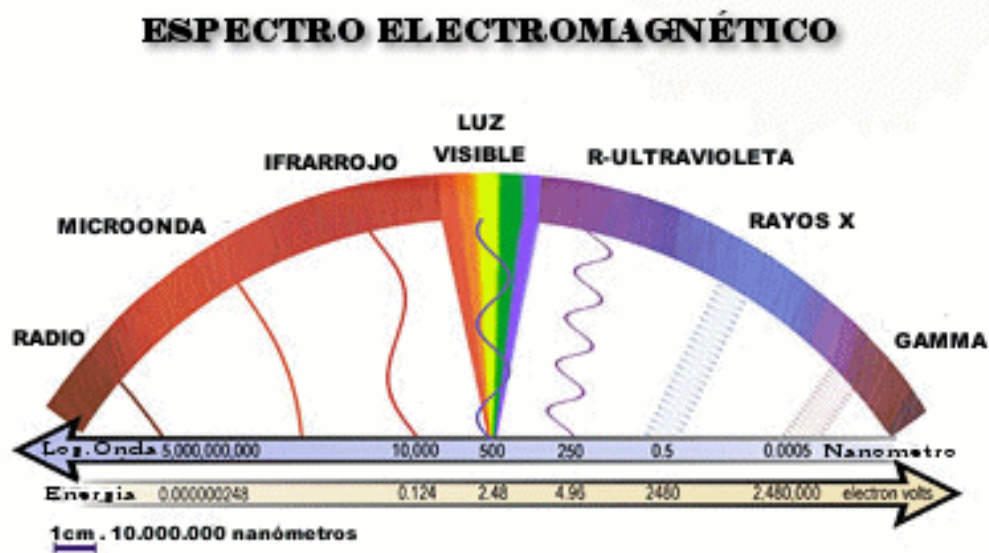


Fig. 1. Espectro electromagnético (Fuente: [http://www.astrocosmo.cl/astrofis/r-cosmicos/f-04\\_04.gif](http://www.astrocosmo.cl/astrofis/r-cosmicos/f-04_04.gif)).

Una radiación es ionizante cuando al interactuar con la materia produce la ionización de la misma, origina partículas con carga eléctrica (iones). El origen de estas radiaciones es siempre atómico, pudiéndose producir tanto en el núcleo del átomo como en los orbitales y pudiendo ser de naturaleza corpuscular (partículas subatómicas) o electromagnéticas (rayos X, rayos gamma).

Las radiaciones ionizantes de naturaleza electromagnética son similares en naturaleza física a cualquier otra radiación electromagnética pero con una energía fotónica muy elevada (altas frecuencias, bajas longitudes de onda) capaz de ionizar los átomos. Las radiaciones corpusculares están constituidas por partículas subatómicas que se mueven a velocidades próximas a las de la luz.

Existen varios tipos de radiaciones emitidas por los átomos, siendo las más frecuentes: la desintegración “ $\alpha$ ”, la desintegración “ $\beta$ ”, la emisión “ $\gamma$ ” y la emisión de rayos X y neutrones. Las características de cada radiación varían de un tipo a otro, siendo importante considerar su capacidad de ionización y su capacidad de penetración, que en gran parte son consecuencia de su naturaleza.

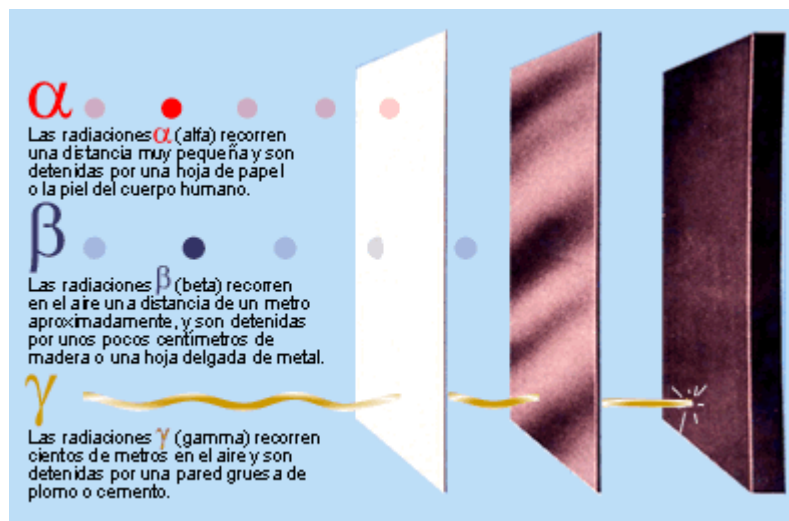


Fig. 2. Diferentes tipos de radiación y su capacidad de penetración  
(Fuente: [www.madrimasd.org](http://www.madrimasd.org))

Los rayos X, las emisiones radiactivas (alfa, beta y gamma, entre otras) y las partículas resultantes de reacciones nucleares (como los neutrones, los protones y los deuterones) pueden afectar a la salud de las personas—aun cuando la energía absorbida sea muy pequeña—debido a la capacidad que poseen estas radiaciones de ionizar los átomos que encuentran en su trayecto, peculiaridad que les valió la denominación de radiaciones ionizantes (Arias, 2006).

Las moléculas que poseen átomos ionizados aumentan su reactividad química y pueden provocar alteraciones en las estructuras celulares, siendo de particular importancia las que ocurren en las moléculas del ácido desoxirribonucleico (ADN).



Otras radiaciones electromagnéticas de mayor longitud de onda –y por consiguiente de menor energía fotónica -, denominadas radiaciones no ionizantes, solo pueden afectar a la salud mediante procesos biofísicos que requieren niveles de exposición miles de veces superiores en términos de energía absorbida, ya que tienen niveles de energía inferiores a los que se requieren para provocar la ionización de los átomos que encuentran a su paso.

Se comportan como radiaciones no ionizantes las de los siguientes tipos: ultravioleta, luz visible, microondas, ondas de radio y radiaciones de baja frecuencia (Arias, *op. cit.*; Fanjul, 2000).

Se han desarrollado sistemas de prueba con el propósito de evaluar los efectos producidos por agentes ambientales, a los que el hombre está expuesto, dentro de estos sistemas se encuentran la electroforesis unicelular o ensayo cometa y la prueba de micronúcleos (MN), que son los estudios que se aplicaron en este trabajo.

Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que espontáneamente o por agentes externos sufren rupturas, ejemplo de este tipo son las radiaciones (agentes que se denominan clastógenos), o bien, agentes que dañan el huso mitótico (aneuploidógenos), como el alcaloide vincristina, quedando éstos fuera del núcleo durante la mitosis (Zúñiga, 2006). Su descubrimiento se efectuó en 1891, Howell encontró por primera vez un MN en eritrocitos humanos, posteriormente el corpúsculo fue descrito por Jolly (Álvarez, 2000). Los MN son conocidos, en el campo de la hematología, como cuerpos de Howell-Jolly y su forma es generalmente redonda o almendrada, con un diámetro que varía desde 0.4 a 1.6 micras ( $\mu$ ). La prueba de MN fue desarrollada por W. Schmid en 1975 (Castillo, 2005).

La prueba se puede realizar en diferentes tipos celulares: eritrocitos policromáticos de la médula ósea, cultivos de linfocitos de sangre periférica, eritrocitos jóvenes y maduros de la sangre periférica, queratinocitos, células de la mucosa oral, hepatocitos de rata, células germinales y células de descamación de la vagina de la rata, entre otros (Zúñiga, *op. cit.*).

Se ha observado que la mucosa oral es de las más afectadas porque tiene un epitelio no queratinizado, además de que el área de exposición es mayor en la cavidad oral, lo que la hace más vulnerable a los cambios (Kamboj, 2007).

El estudio de MN de la mucosa oral es relativamente simple; tiene la ventaja de que se realiza directamente sin la elaboración de cultivos, estas células reflejan el efecto genotóxico ocurrido en la capa basal en las últimas tres semanas (Zúñiga, *op. cit.*), este estudio representa un “dosímetro interno” para estimar la exposición a agentes genotóxicos y carcinógenos (Kamboj, ya citado). En el año de 1999, la técnica fue validada a nivel mundial y considerada como un biomarcador efectivo de daño en el ADN.

La electroforesis de células individuales o ensayo cometa es una prueba rápida, con una sensibilidad que supera en más de 100 veces a las pruebas citogenéticas y que permite detectar roturas de cadena simple y sitios lábiles a los álcalis.

Este ensayo puede ser aplicado a cualquier célula eucariótica y permite el análisis del daño genético al nivel de células individuales. Se utiliza además para monitoreo ambiental y análisis de sensibilidad a radiaciones (Prieto, 1999). Esta técnica brinda información más precisa del nivel de daño al ADN, que se determina por la longitud de la cauda del cometa o por el “momento de la cauda” (longitud de la cauda del cometa multiplicado por la intensidad de la fluorescencia en la cauda).

## **JUSTIFICACIÓN**

Son enfermedades profesionales sólo aquellas que así define la ley para cada país. En México, de acuerdo con la Ley Federal del Trabajo y su cuadro de Enfermedades Profesionales, éstas se clasifican en 6 grupos, dentro del cual está el de Las Enfermedades Producidas por Agentes Físicos (radiaciones).

En el país, existen pocos estudios relativos al conocimiento de los efectos de los rayos X en personas expuestas, además, no se encontró ninguno realizado con los ensayos cometa y micronúcleos para averiguar los daños directos en el ADN empleando las pruebas que ahora se presentan.

A lo largo de la historia, se observa una mayor proporción de casos de leucemia entre los médicos y radiólogos que han usado rayos X en comparación con los que no los han utilizado. Además, se presentan casos de leucemia entre pacientes que han recibido tratamiento de rayos X para algunos tipos de reumatismo, no estando claro que exista un umbral para la leucemia. Los órganos reproductores son particularmente sensibles. A nivel cromosómico se pueden producir alteraciones estructurales producidas específicamente por las radiaciones como son los cromosomas dicéntricos, siendo su estudio y análisis la base o el fundamento de la dosimetría biológica. Estas alteraciones generalmente incapacitan a las células para reproducirse.

En las últimas décadas, la integridad genética de la población humana se ha visto comprometida por la gran actividad industrial, que provoca la exposición a productos químicos y agentes genotóxicos, es por ello que es importante realizar ensayos de genotoxicidad de manera rutinaria y monitorizar a aquellos individuos que, por su ocupación laboral o estilo de vida, se encuentran más expuestos o con mayor riesgo de sufrir alteraciones capaces de modificar su estabilidad genética.

## **OBJETIVOS:**

- **Objetivo General:**

- Determinar mediante las pruebas de electroforesis unicelular y micronúcleos, el efecto genotóxico producido por los rayos X en individuos expuestos laboralmente.

- **Objetivos específicos:**

- Determinar:
  - La cantidad de micronúcleos en células de la mucosa oral.
  - El daño al ADN por electroforesis unicelular en leucocitos.

## **CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES**

La energía depositada por las radiaciones ionizantes al atravesar las células vivas da lugar a iones y radicales libres que rompen los enlaces químicos y provocan cambios moleculares que dañan las células afectadas. Cualquier parte de la célula puede ser alterada por la radiación ionizante, pero el ADN es el blanco biológico más crítico debido a la información genética que contiene. Una dosis absorbida lo bastante elevada para matar una célula tipo en división sería suficiente para originar centenares de lesiones reparables en sus moléculas de ADN. Las lesiones producidas por la radiación ionizante de naturaleza corpuscular (protones o partículas alfa) son, en general, menos reparables que las generadas por una radiación ionizante fotónica (rayos X o rayos gamma). El daño en las moléculas de ADN que queda sin reparar o es mal reparado puede manifestarse en forma de mutaciones cuya frecuencia está en relación con la dosis recibida (NTP 614).

El daño provocado por las radiaciones ionizantes a nivel del ADN, es bien conocido desde los estudios de Muller en 1927 y Stadler en 1928 acerca del efecto mutagénico de los rayos X en *Drosophila, sp.* (“mosca de la fruta”), cebada y maíz respectivamente. Después de la Segunda Guerra Mundial, que finalizó con las explosiones atómicas de Hiroshima y Nagasaki, la mayoría de los estudios tendieron a evaluar el efecto biológico de las radiaciones en seres humanos. Además, se llevó a cabo un gran número de estudios con el fin de dilucidar los mecanismos involucrados en la inducción de aberraciones cromosómicas (De Luca, sin fecha).

El estudio de los efectos biológicos de la radiación se inició (y aún continúa) irradiando cultivos celulares con diferentes tipos de radiación. Al contar cuántas células del cultivo habían sido capaces de sobrevivir a la irradiación, fue evidente que iguales dosis de radiación diferente no producían los mismos efectos biológicos (Brandan, *op.cit.*).

Poco después de que se inventara el tubo de rayos X, desde las primeras experiencias con las radiaciones, las personas que trabajaban con ellas observaron lesiones en la piel de sus manos.

Varios científicos se irradiaron la piel a propósito para obtener más datos, y descubrieron que una fuerte exposición podía causar enrojecimiento o quemaduras aún transcurridas varias semanas después del contacto. Se constató que una exposición muy fuerte podía incluso provocar heridas abiertas (úlceras en la piel) y caída temporal de cabello. Asimismo, observaron que un tejido expuesto y curado inicialmente, podía desarrollar cáncer años después.

Cuando una persona se encuentra expuesta a radiaciones ionizantes, puede ver perturbada su salud de diferentes maneras, en el cuadro 1, se muestra la radiosensibilidad de algunos tipos celulares, como se puede ver, la radiosensibilidad va desde muy alta en linfocitos, células hematopoyéticas inmaduras, etc., alta en membranas mucosas, intermedia en endotelio, hueso y cartílago en crecimiento, hasta baja en células musculares, hueso y células hematopoyéticas maduras, en base a estos datos, se decidió que los estudios se aplicarían a células con radiosensibilidad muy alta (linfocitos) y radiosensibilidad alta (mucosa oral).

Los efectos adversos que provocan las radiaciones pueden ponerse de manifiesto tanto en un corto espacio de tiempo como después de un cierto periodo de años, incluso habiendo cesado la exposición, ya que éstos son distintos si la mutación ocurre en una célula germinal o si ocurre en una célula somática (Martínez, 1995).

**Tabla 1** Radiosensibilidad de algunos tipos celulares importantes en el organismo.

<b>Radiosensibilidad</b>	<b>Tipo celular</b>
Muy alta	Linfocitos, células hematopoyéticas inmaduras, epitelio intestinal, espermatogonia y células foliculares del ovario.
Alta	Epitelio de la vejiga, epitelio esofágico, mucosa gástrica, membranas mucosas, epitelio de la epidermis y epitelio del lente óptico.
Intermedia	Endotelio, hueso en crecimiento, cartílago en crecimiento, fibroblastos, epitelios, epitelios: pulmonar, renal, hepático, pancreático, tiroideo y suprarrenal.
Baja	Células hematopoyéticas maduras, células musculares, tejido conectivo maduro, hueso y cartílago maduro y células ganglionares.

Fuente: Martínez D. C. 1995.

Una vez que se produce el daño en el ADN, la célula activa mecanismos que pueden conducir hacia la muerte celular programada (apoptosis), o bien a la reparación de los daños originados. La reparación incorrecta de las lesiones, se puede observar en metafase, en forma de alteraciones cromosómicas (Cigarrán, 2002).

Las aberraciones inestables (dicéntricos, fragmentos acéntricos, anillos céntricos) y las aberraciones estables (traslocaciones recíprocas y de otro tipo) son los dos principales tipos de alteraciones cromosómicas inducidas por irradiación de células en los estadios G0 o G1 del ciclo celular (Bellorín, 2002).

Villalobos y cols. (citado por Díaz Valecillos), en un estudio citogenético en cultivo de linfocitos de sangre periférica en personal de radiología de un hospital público y en personas no expuestas, encontraron alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales en cinco individuos expuestos a radiación ionizante, mientras que el grupo control no presentó anomalías cromosómicas (Díaz Valecillos, *op.cit.*).

El análisis cromosómico a partir de linfocitos en sangre periférica constituye un buen indicador biológico para evaluar los efectos deletéreos de la radiación ionizante sobre el hombre.

A pesar de estos descubrimientos, aun hay dudas del impacto del daño genético inducido por las radiaciones en las poblaciones humanas, particularmente en los trabajadores que están expuestos en forma crónica a bajas dosis como lo son los técnicos de rayos X, es por esto que se han desarrollado nuevas formas de análisis de lesiones en el ADN (Kopjar, 2005).

Ciertos efectos denominados “deterministas” como la esterilidad, la catarata, el eritema, los trastornos hematopoyéticos y el síndrome agudo por radiación, pueden evitarse del todo si las dosis que reciben las personas no sobrepasan determinados umbrales, estos son de alrededor de 0.5 gray (Gy) en el caso de exposición aguda y de 0.1 Gy en el de la exposición crónica.

Otros efectos llamados “estocásticos” (la inducción del cáncer y algunos trastornos hereditarios) no pueden evitarse por completo. No hay datos comprobatorios que permitan establecer una dosis umbral para la aparición de estos efectos. Los términos “determinista” y “estocástico” aluden a la naturaleza pronosticable o probabilística de estos efectos (NOM-012-STPS-1993).

### **1.1 Unidades de medición**

Roentgen: Antes del año 1928 no existían unidades para describir cuantitativamente las dosis de radiación. La Comisión Internacional para Unidades Radiológicas propuso el *roentgen* (R) como unidad de radiación. Las exposiciones médicas en radiología se miden en miliroentgen (mR) (Martínez, 1995).

Rad y Gray: En 1953 se propuso el rad. El rad (*radiation absorbed dose*) mide la energía absorbida o dosis, equivale a 100 ergios por gramo de sustancia irradiada. En tejidos blandos un rad es aproximadamente igual a un R. Actualmente el sistema internacional de medidas utiliza como unidad de radiación absorbida al Gray (Gy), equivalente a la energía absorbida por kilogramo de sustancia irradiada. Un Gy equivale a 100 rads.

Rem y Sievert (Sv): El R, el rad y el Gy son parámetros físicos. El rem (Sievert en el sistema internacional de unidades) refleja la respuesta biológica a las radiaciones ionizantes, por lo que puede ser utilizada para comparar efectos de diferentes radiaciones. Rem proviene de las siglas en inglés *roentgen equivalent man*. Un Sv equivale a 100 rems y un rem equivale a 10 milisieverts (Martínez, ya citado)

### **1.2 Límites anuales de dosis**

La radiación se mide en unidades diferentes. Actualmente el Sistema Internacional de Medidas utiliza como unidad de radiación absorbida al Gray (Gy), equivalente a la cantidad de energía realmente absorbida por cualquier tejido o sustancia tras una exposición a la radiación (Manual Merck, 2007). Un Gy equivale a 100 rads (Martínez, *op. cit.*) y es suficiente para ejercer efecto teratogénico en humanos (Rodríguez Arnaiz, 1994).

El roentgen (R) mide la cantidad de ésta en el aire. Como algunos tipos de radiación pueden afectar a unos organismos biológicos más que a otros, para describir la intensidad de los efectos que la radiación produce sobre el cuerpo, a cantidades equivalentes de energía absorbida, se utiliza el sievert (Sv).

Los efectos perjudiciales de la radiación dependen de la cantidad (dosis), la duración y el grado de exposición. Una única dosis rápida de radiación puede ser mortal, pero la misma dosis total aplicada en un lapso de semanas o meses puede producir efectos mínimos. La dosis total y el grado de exposición determinan los efectos inmediatos sobre el material genético de las células.

Se llama dosis a la cantidad de radiación a la que está expuesta una persona durante un determinado período de tiempo. La dosis de radiación ambiental que resulta inevitable es baja, alrededor de 1 a 2 miligrays (1 miligray equivale a 1/1000 gray) al año, y no produce efectos detectables sobre el organismo (Manual Merck, 2007), sólo cuando ésta se usa en cantidades excesivas puede ser teratógena (Arias, ya citado). El límite de dosis son los valores que pueden recibir las personas expuestas y que nunca deben ser sobrepasados. Los límites de dosis se distinguen entre personas profesionalmente expuestas y público en general, como se observa en la siguiente tabla (Pascual, 1992).



<b>Exposición total y homogénea</b>	<b>Personas profesionalmente expuestas</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▣ Todo el organismo 50 mSv/año (5,0 rem/año)</li> <li>▣ Estudiantes entre 16 y 18 años 15 mSv/año (1,5 rem/año)</li> </ul>	
<b>Exposición total no homogénea o Exposición parcial del organismo</b>	<b>Personas profesionalmente expuestas</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▣ Todo el organismo 50 mSv/año (5,0 rem/año)</li> <li>▣ Cristalino 150 mSv/año (15 rem/año)</li> <li>▣ Piel 500 mSv/año (50 rem/año)</li> <li>▣ Extremidades 500 mSv/año (50 rem/año)</li> <li>▣ Otros órganos o tejidos 500 mSv/año (50 rem/año)</li> </ul>	
<b>Límites especiales</b>	<b>Personas profesionalmente no expuestas</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▣ Cristalino 15 mSv/año (1,5 rem/año)</li> <li>▣ Piel 50 mSv/año (5,0 rem/año)</li> <li>▣ Extremidades 50 mSv/año (5,0 rem/año)</li> <li>▣ Otros órganos o tejidos 50 mSv/año (5,0 rem/año)</li> </ul>	
<b>Operaciones especiales planificadas</b>	Para un periodo de 12 meses consecutivos, se considera como exposición total y homogénea	
	Mujeres en condición de procrear	13 mSv/trimestre (abdomen)
	Mujeres gestantes	10 mSv/embarazo (feto)
	<b>Sólo trabajadores profesionalmente expuestos de categoría A</b>	
	▣ Dosis/año	< doble de los límites anuales de dosis
	▣ Dosis/vida	< quíntuplo de los límites anuales de dosis

mSv: Milisievert

Tabla 2: Límites anuales de dosis (Fuente: Pascual, 1992).

Los efectos de la radiación son acumulativos, es decir, cada exposición se suma a las anteriores hasta determinar la dosis total y su probable efecto sobre el organismo. De la misma forma, a medida que aumenta la proporción de la dosis o la dosis total, también aumenta la probabilidad de que se produzcan efectos detectables. Los efectos de la radiación también dependen del porcentaje del organismo que resulta expuesto (Manual Merck, ya citado).

Las radiaciones generan mutaciones “de novo” en células germinales y somáticas, alteraciones en la fase M (mitosis) del ciclo celular, muerte celular (apoptosis), reemplazo y retardo del crecimiento celular, así como fragmentación de cromosomas provocada por los cambios químicos en la molécula del ADN.

La radiación de alta energía como la luz ultravioleta (UV), rayos X, rayos gamma ( $\gamma$ ), protones, partículas  $\alpha$  (alfa) y otras partículas atómicas pueden causar rupturas cromosómicas.

El análisis citogenético puede ser considerado como una herramienta útil para la evaluación y el asesoramiento de los efectos biológicos de la radiación ionizante en el hombre y en su descendencia (Bellorín, *op. cit.*), sin embargo, la tecnología ha permitido el desarrollo de otro tipo de pruebas que nos permiten estudiar más específicamente el tipo de daños que pueden provocar las radiaciones ionizantes en el ADN, entre ellos se encuentran la electroforesis de células individuales y la prueba de micronúcleos, que serán los que se utilicen en el presente trabajo.

Existen algunos estudios donde utilizan tanto la electroforesis de células individuales como la prueba de MN para valorar las lesiones en el ADN inducidas por rayos X en personas ocupacionalmente expuestas (técnicos de rayos X). Estos análisis fueron usados como biomarcadores de daño genético. He, y col. (2000), hicieron evaluaciones comparativas de ambos estudios para determinar cuál de ellos era más sensible para detectar los efectos genotóxicos de las radiaciones por rayos X, los resultados mostraron que la electroforesis de células individuales es mucho más sensible que la prueba de MN para valorarlas.

En dicho estudio se evaluó también el promedio de longitud de la cauda y el de las células con micronúcleo, cuyos resultados fueron directamente proporcionales con la dosis de exposición, es decir, mientras mayor longitud de la cauda y mayor número de micronúcleos, mayor dosis de exposición (He, *op. cit.*); Chen, 2000; Garaj-Vrhovac, 2003), conclusión que comparten también Thierens (2000) y Maffei (2002), quienes únicamente aplicaron la prueba de micronúcleos.

Por otra parte, la radiosensibilidad se puede influenciar por factores epigenéticos como el tabaquismo, entre otros, debido a daño directo de la cromatina.

Maluf, y cols., (2001), proponen el uso combinado de la electroforesis de células individuales y la prueba de micronúcleos para la monitorización de la población crónicamente expuesta a agentes genotóxicos, dentro de ellos, las radiaciones ionizantes específicamente rayos X.

### 1.3 Sistemas biológicos de prueba.

Los sistemas de prueba se idearon con el propósito de evaluar, en organismos de bioensayo, los efectos producidos por agentes químicos ambientales, a los que el hombre está expuesto (Rodríguez, *op. cit.*).

A pesar de que en la actualidad existen más de 150 sistemas de prueba, solamente se utilizan pocos para evaluar los agentes químicos ambientales.

De los que se emplean en forma rutinaria están los que detectan mutaciones, rompimientos cromosómicos (clastogenia) y recombinación mitótica (recombinación en células somáticas), por varias razones: detección de mutaciones en células germinales, predicción de la carcinogénesis, investigación de las propiedades bioquímicas de los compuestos. Algunos de estos sistemas son:

- Microorganismos
- Prueba microsomal
- Prueba de micronúcleos
- Prueba de *locus* específico
- Ensayo cometa tradicional y modificado (con enzima FPG)
- Daño al ADN
- Reparación del ADN
- Síntesis no programada del ADN
- Inhibición del ADN
- Estudio de aductos de 8 desoxiguanina
- Conversión génica
- Análisis citogenético
- Intercambio de cromátidas hermanas, entre otras.

Bender y Gooch (citados por Bellorín, 2002) sugirieron el uso de daño cromosómico en linfocitos humanos como una medida cuantitativa de exposición a radiación.

Por otra parte, en el estudio que ahora se presenta, se van a emplear dos sistemas de prueba, que son:

- 1) Electroforesis de células individuales o Ensayo cometa.
- 2) Prueba de micronúcleos.

Los MN son cuerpos citoplasmáticos esféricos, detectados en interfase, más pequeños y morfológicamente idénticos al núcleo celular. Se originan a partir de fragmentos acéntricos o cromosomas enteros que se retrasan en la división celular y fallan en su incorporación a los núcleos hijos. Los MN pueden ser expresados solamente en células que han completado un ciclo de división celular.

La mayor parte de los MN radioinducidos, se origina primariamente a partir de fragmentos acéntricos, lo que denota la acción fundamentalmente clastogénica de las radiaciones ionizantes, un menor número proviene de cromosomas enteros retrasados durante la anafase debido a algún defecto a nivel de huso mitótico o proteínas de cinetocoro. Entre las razones para el uso extensivo del ensayo de MN tanto en toxicología genética como en el biomonitoreo de poblaciones humanas, se pueden mencionar su confiabilidad, simplicidad y rapidez.

El ensayo de MN es un biomarcador confiable para la evaluación de exposiciones agudas y crónicas (Di Giorgio, 2003).

## **CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO**

El ser humano ha estado expuesto a las radiaciones ionizantes desde su aparición sobre la Tierra, pero sólo fue capaz de identificarlas y usarlas desde el momento, en 1895, en que Wilhelm Konrad Röntgen descubrió los rayos X, cuando experimentaba con rayos catódicos, se trata de ondas electromagnéticas originadas por el choque de electrones con un determinado material, en el interior de un tubo de vacío (Alvarado, 2007; Lisker, 2001).

Un año después, en 1896, el científico francés Antoine Henri Becquerel comenzó a explorar otro fenómeno que posteriormente Marie Curie llamaría “radiactividad” (Arias, *op. cit.*), al quedar impresionadas las placas fotográficas que habían estado guardadas, protegidas de la luz, en un cajón en el que había mineral de uranio.

Becquerel supuso, con acierto, que el compuesto de uranio había emitido una radiación capaz de velar las películas fotográficas.

Pocos años después, los esposos Marie y Pierre Curie, descubrieron que, a medida que el uranio emitía radiaciones, se iba transformando en otros elementos químicos distintos, como el radio y el polonio -éste último, así denominado en honor a su país de origen- (Alvarado; Lisker; *op. cit.*).

La fuente más importante de exposición a radiación producida por el ser humano, hoy en día, son los exámenes médicos que utilizan rayos X, los médicos fueron los primeros en emplear fuentes de radiaciones ionizantes para exploraciones y también en sufrir los daños provocados por las mismas (Arias, ya citado). Después de los exámenes radiológicos, el segundo lugar entre las fuentes actuales de radiación creadas por el hombre, lo ocupan los ensayos de bombas nucleares realizados en la atmósfera desde 1945 (Brandan, *op. cit.*).

## 2.1 Efectos biológicos de las radiaciones

### 2.1.1 Efectos a nivel celular:

Los efectos biológicos originados por la exposición a las radiaciones ionizantes resultan de la interacción de las partículas (electrones, protones, partículas alfa e iones más pesados) o las ondas electromagnéticas (rayos X o gamma) con las macromoléculas biológicas. La interacción más importante es con el ADN constituyendo el blanco de preferencia afectado por las radiaciones ionizantes (Díaz Valecillos, ya citado)

Los efectos serán en primera instancia sobre las células que presentan diferentes características en su forma, tamaño, componentes, y en su velocidad de división, de acuerdo con el tejido al que pertenecen y a la función que realizan.

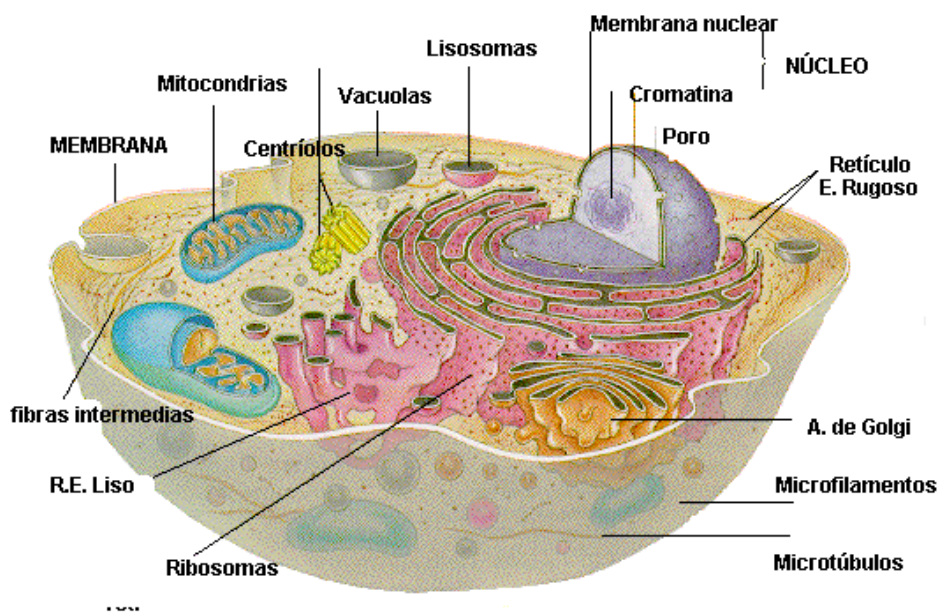


Fig. 3. Partes de la célula (Fuente: [edu.jccm.es/.../biologia/partes\\_celula.htm](http://edu.jccm.es/.../biologia/partes_celula.htm))

La membrana es la estructura que limita a la célula, a través de ella entran o salen sustancias y nutrientes. La integridad de la membrana es muy importante y algún daño a esta cubierta puede ser fatal para la célula.

El citoplasma se encuentra envuelto por la membrana y rodea al núcleo. Está constituido por proteínas, lo que le da un aspecto coloidal. En él se encuentran localizadas las estructuras celulares llamadas organelas que realizan las diferentes actividades requeridas para el funcionamiento adecuado de la célula.

El núcleo es la estructura más importante para la vida celular. En él se encuentra el ADN que almacena toda la información necesaria para que la célula viva, su estructura es en forma de doble hélice y está constituido por la unión de bases nitrogenadas con desoxirribosa y ácido fosfórico. Las bases nitrogenadas son de cuatro tipos (Adenina, Timina, Guanina y Citosina) y su secuencia contiene el mensaje (código genético) para la síntesis de las proteínas. Estas últimas determinarán la estructura y estará a su cargo gran parte de las funciones fisiológicas del organismo.

La unidad más sencilla, completa y funcional formada por el ADN se llama gen, el que contiene la información suficiente para producir los elementos que constituyen las proteínas. Los genes se agrupan en estructuras conocidas como cromosomas. El número de cromosomas es característico de cada especie, el ser *Homo sapiens* posee 23 pares diferentes (Brantan, 1995).



Fig. 4. Imagen en doble hélice del ADN. (Fuente: [soymino.wordpress.com/.../ilusion-y-realidad-ii/](http://soymino.wordpress.com/.../ilusion-y-realidad-ii/))

Los procesos de ionización, y en menor medida los de excitación, generados por las radiaciones ionizantes en el medio celular, alteran el comportamiento químico de sus moléculas, lo que puede dar lugar a modificaciones anatómicas o funcionales en la célula. Las estructuras celulares en las que esta acción es más significativa son las moléculas de ADN. Los daños que pueden producirse en una molécula de dicho ácido incluyen la posibilidad de modificaciones de la información genética, no siempre corregibles por los mecanismos celulares de reparación.

Es posible que la secuencia de bases en la hélice del ADN se modifique, con lo que se produce un cambio en la información que se encuentra codificada en la molécula. A este cambio se le denomina mutación y puede ocurrir en cualquier célula por diversas causas.

### **2.1.2 Efectos sobre el organismo:**

El comportamiento armónico del organismo depende del normal funcionamiento de cada uno de sus órganos y tejidos.

La estructura de la mayor parte de ellos se sostiene mediante la periódica reposición de sus células, que está condicionada por el correcto funcionamiento de los mecanismos de reproducción celular. A su vez, el comportamiento de las células es función de la integridad con que logren preservar su información genética. Los efectos biológicos de las radiaciones en un organismo se clasifican en dos grandes categorías a) Determinísticos y b) Estocásticos (Arias, ya citado).

#### **2.1.2.1 Efectos determinísticos**

Esta expresión significa que es posible predecir el efecto que habrá de provocar en una persona determinada, la absorción de una dosis dada por parte de sus órganos o tejidos. Se caracterizan por la muerte o imposibilidad de reproducción de las células irradiadas. Si la cantidad de células involucradas es suficientemente grande, los tejidos u órganos expuestos pueden resultar dañados.



Los valores umbrales de dosis difieren según los tejidos u órganos irradiados. Para exposición única y aguda los valores de dosis umbral son superiores a 0.5 Gy, mientras que para exposición crónica son superiores a 0.1 Gy por año.

La irradiación de todo el cuerpo puede provocar daños de diversa severidad y hasta la muerte del individuo irradiado. La causa determinante de la muerte difiere según el orden de magnitud de las dosis recibidas. La dosis letal media (dosis aguda en todo el cuerpo que puede provocar la muerte de la mitad de las personas irradiadas en un lapso de 60 días) es del orden de 3 a 5 Gy. Dosis superiores a 8 Gy en todo el cuerpo provocan la muerte de la totalidad de los individuos irradiados.

#### **2.1.2.2 Efectos estocásticos:**

Se denominan así porque no pueden predecirse a nivel individual sino tan solo de manera estadística en grupos numerosos de persona que han recibido dosis de radiación. Se caracterizan por la modificación de la información genética de células sin pérdida de su capacidad reproductiva. Esas modificaciones pueden propagarse a través de sucesivas reproducciones celulares, dando lugar a colonias de células modificadas.

Este proceso puede derivar en fenómenos que se manifiestan como efectos cancerígenos tras un periodo de latencia.

Si las modificaciones se producen en células germinales pueden transmitirse a la descendencia de las personas irradiadas, dando lugar a efectos hereditarios. Estos efectos tienen características probabilísticas y se considera que carecen de umbral de dosis.

## 2.2 Genética Toxicológica:

La genética toxicológica es la disciplina científica que identifica y analiza la acción de los xenobióticos, capaces de interactuar con el material genético de los organismos por lo que se les denomina compuestos genotóxicos. Su objetivo principal es detectar y explicar las propiedades de los agentes físicos y químicos genotóxicos que producen efectos hereditarios desde deletéreos hasta letales (Rodríguez, 1994).

La genética nace formalmente con el redescubrimiento -a principios del siglo XX- de las investigaciones que realizó en 1865, Gregorio Mendel.

Los científicos se preguntaron sobre la naturaleza del gen y a partir de ahí realizaron experimentos para determinar de qué forma los factores externos inducen cambios en el orden genético natural. Es así como surge el término *mutación*, adoptado por Hugo de Vries en 1901 para describir los cambios morfológicos que encontró en sus estudios realizados en plantas. En 1904, propuso que los rayos X, descubiertos desde 1895 y capaces de penetrar en las células vivas, podrían emplearse para alterar las partículas hereditarias de las células germinales (Fanjul, ya citado).

En 1927, Herman Muller demostró que las radiaciones ionizantes son capaces de producir mutaciones en la “mosca de la fruta” (*Drosophila melanogaster*), a las que definió “como los cambios en la cantidad, cualidad y arreglo de los genes”. También sugirió que las radiaciones podrían producir cambios en las células somáticas de los tejidos, y en las que se dividen activamente podrían producirse distintos tipos de cáncer, incluyendo las leucemias. Hermann Joseph Muller es también conocido por sus severas advertencias sobre los efectos de la radiación nuclear en los genes humanos.

A finales de los setentas –del siglo pasado- se demostró, mediante pruebas toxicológicas, la correlación que existe entre la inducción por diversos agentes químicos de mutaciones o mutagénesis y el desarrollo de algunos tipos de cáncer o carcinogénesis.

Esta correlación se estableció debido a que la mayoría de los agentes o sustancias capaces de producir cáncer –denominadas en general como carcinógenos-, interactúan directa o indirectamente con los ácidos nucleicos, y por lo tanto tienen la capacidad de producir efectos heredables, tal es el caso de las radiaciones (Rodríguez, *op. cit.*).

### **2.2.1 Efectos adversos de las mutaciones**

Las mutaciones pueden producirse tanto en células germinales como en somáticas. Las consecuencias de una y otra son diferentes, en términos de la población y del individuo.

Los supuestos establecidos por Mendel fueron recogidos en la teoría de la continuidad del plasma germinal de Weissman que se caracteriza por el rechazo del postulado darwinista de la herencia de los caracteres adquiridos. Considera Weissman que los organismos están constituidos por dos materiales diferentes, con existencia independiente el uno del otro: la sustancia hereditaria o plasma germinal (genotipo) y la sustancia nutritiva o trofoplasma (fenotipo). Cada germen de la sustancia germinal determinaría una parte concreta del organismo en su aparición y forma definitiva, quedando así el soma reducido a la situación de un simple vivero de células germinales.

El postulado weissmanista, establece que entre el genotipo y el fenotipo existen solamente relaciones de sentido único, de tal manera que las variaciones corporales, citoplásmicas, etc., así como la acción modificadora del medio, no afectarían de ninguna manera a la sustancia germinal.

Por esta causa, las variaciones fenotípicas que se suceden a lo largo de la vida de los organismos (con independencia de las variaciones que puedan sufrir esos mismos organismos en sus genotipos), no serían transmitidas a las generaciones posteriores. Es decir, cualquier variación en el fenotipo que no tuviera su origen en el genoma, resultaría intrascendente, no se heredaría, perdiéndose inevitablemente con la muerte del organismo (Anónimo, 1989).

La gran mayoría de los agentes genotóxicos se han detectado a través de los cambios transmisibles a las generaciones sucesivas. Una vez que se fija una mutación, ésta resulta ser tan estable como la secuencia original (Rodríguez, 1994).

### **2.2.2 Teratogénesis y carcinogénesis**

Se denomina como teratógena, a cualquier sustancia capaz de producir malformaciones en el embrión o producto, (Navarro, 1997), por otra parte, los agentes genotóxicos que provocan alteraciones durante el desarrollo embrionario se conocen desde 1962 con la tragedia ocasionada por la ingestión de la talidomida por mujeres en periodo de gestación. Actualmente, se conocen muchos factores que alteran el desarrollo y producen niños con malformaciones. Entre ellos, destaca el genético, debido a la herencia de genes o combinaciones cromosómicas, la exposición a radiaciones, enfermedades virales y diversos agentes químicos.

Por otra parte, la palabra cáncer designa de manera genérica a una serie de enfermedades que se originan en distintos tipos celulares somáticos, un rasgo común de las células cancerosas es que tienen alterados los mecanismos normales de división celular (Rodríguez, *op. cit.*).

### **2.2.3 Efectos de la irradiación durante el periodo embrionario y fetal:**

La irradiación durante el periodo embrionario o fetal puede provocar malformaciones, retraso mental e inducción de afecciones malignas e incluso la muerte del producto con dosis del orden de 0.1 Gy antes o inmediatamente después del implante del embrión en el útero, y posteriormente, con dosis mayores.

La irradiación durante las semanas 8 a 25 puede provoca retraso mental. El periodo más sensible es el que transcurre entre la semana 8 y la 15 (Arias, ya citado).

### **2.3 Seguridad y Salud en el trabajo:**

Los accidentes de Trabajo y las Enfermedades Profesionales, son tan antiguas como el hombre, pues tenemos que los primeros trabajos fueron efectuados por los *Australopithecus*.

En los albores de la humanidad Platón y Aristóteles, nos hablaban de una tos, que padecían los esclavos de las canteras, y que los llevaba a la muerte. Posteriormente, se han encontrado cuerpos momificados de esclavos que trabajaron en la construcción de las pirámides egipcias, que presentaban los cuadros de enfermedad profesional como la Silicosis.

Los riesgos laborales fueron en aumento con el descubrimiento de nuevos elementos que incorporó el hombre a su vida diaria, sin embargo, en ésta época todo quehacer se mantenía en forma artesanal, lo que le daba al riesgo de accidente el carácter natural.

Los accidentes y las enfermedades profesionales se incrementaron a raíz del inicio de la actividad industrial, por las precarias condiciones de trabajo, falta de higiene y seguridad, el desconocimiento de las nuevas máquinas y de su operación, es decir, la falta de formación para el trabajo. Situación que trajo consigo la Revolución Industrial (Rospigliosi, 2005).

La Higiene Industrial o Higiene del Trabajo es la técnica de mantener el equilibrio y bienestar físico de la salud, actuando para ello sobre el ambiente de trabajo como medida de prevención de las enfermedades profesionales. Esta labor de prevención debe completarse con la intervención de la Medicina del Trabajo, tanto en tratamientos provisorios, selección de personal, educación sanitaria, etc., como en su fase de curación de la enfermedad.

Debido a su actividad profesional, el hombre está expuesto a contraer enfermedades, si bien tienen relación con el trabajo que realiza, no son debidas a que éste sea nocivo para la salud, sino a circunstancias externas al mismo, mientras que otras resultan ser consecuencia directa de las modificaciones ambientales provocadas por el propio trabajo, que son las denominadas “enfermedades de trabajo”. Son enfermedades profesionales sólo aquellas que así defina la ley para cada país (Cortés, 2001).

En nuestro país, el Artículo 475 de la Ley Federal del Trabajo (LFT) define como enfermedad de trabajo a “todo estado patológico, derivado de la acción continuada de una causa que tenga su origen o motivo en el trabajo o en el medio en el que el trabajador se vea obligado a prestar sus servicios” (LFT, 2008).

De acuerdo con la Ley antes citada y su cuadro de enfermedades profesionales (Artículo 513), éstas se clasifican en los siguientes grupos:

- a) Enfermedades profesionales producidas por agentes químicos
- b) Enfermedades profesionales de la piel causadas por sustancias y agentes no comprendidos en otros apartados.
- c) Enfermedades profesionales provocadas por inhalación de sustancias y agentes no comprendidos en otros apartados.
- d) Enfermedades profesionales infecciosas y parasitarias.
- e) Enfermedades profesionales producidas por agentes físicos.
- f) Enfermedades sistémicas.

En la situación actual y dado el aumento de la política preventiva de las empresas, se está produciendo el descenso, tanto en el número de casos como en su gravedad, de una serie de enfermedades profesionales consideradas clásicas, como: la silicosis, las alteraciones producidas por el ruido, la “sarna del cemento” etc.

Otras se encuentran en fase de desaparición, como el angiosarcoma hepático (producido por el cloruro de vinilo monómero), algunas enfermedades infecciosas (tuberculosis) o tóxicas (osteosis cádmica), etc. Por el contrario, se está produciendo un aumento de otras enfermedades relacionadas con el trabajo y su entorno a pesar de las medidas de prevención adoptadas, como el estrés. Han aparecido además, nuevas enfermedades profesionales, como las afecciones articulares, cuyos factores etiológicos lo constituyen el sedentarismo y la predisposición constitucional, relacionadas con posturas inadecuadas (Cortés.; LFT, *op. cit.*).

Como antes se mencionó, las enfermedades profesionales producidas por agentes físicos están contempladas en el cuadro de enfermedades ocupacionales y dentro de esta clasificación se encuentran las radiaciones ionizantes, que son el objeto de estudio del presente trabajo (Cortés, *op. cit.*; LFT, *op. cit.*).

## **2.4 Usos de las radiaciones:**

### **2.4.1 Usos médicos:**

En el campo de la sanidad, las radiaciones se usan tanto para el diagnóstico, por la capacidad de la radiación para permitir ver lo que no puede verse sin necesidad de recurrir a la cirugía, como para el tratamiento de enfermedades, por la capacidad de la radiación intensa para matar células.

#### **2.4.1.1 Para el diagnóstico médico**

Cuando la radiación X penetra en el cuerpo, produce una semisombra que contiene áreas más claras y más oscuras. Una película situada en la sombra de rayos X del paciente permite ver una imagen de los órganos internos, que luego se interpreta para el diagnóstico.

A partir de las clásicas radiografías utilizadas en traumatología o en la inspección del tórax, se han desarrollado nuevas aplicaciones como las mastografías, el examen dental, la osteoporosis, la tomografía axial computarizada (TAC), etc.

Las técnicas analíticas y el diagnóstico precoz se complementan con los procedimientos de contraste, en los que se introduce al paciente una determinada sustancia para hacer visibles a la radiación tejidos u órganos que no lo son en condiciones normales.

#### **2.4.1.2 Para el tratamiento médico**

La otra gran aplicación de la radiación en medicina surge de su capacidad para destruir células. Paradójicamente, esta capacidad que es el origen lógico del rechazo hacia la radiación cuando se recibe de forma incontrolada, puede convertirla en herramienta de curación cuando se dosifica y utiliza adecuadamente.

Junto a los tratamientos quirúrgicos y químicos, la aplicación selectiva de fuertes dosis de radiación en determinadas células se ha demostrado como una vía eficaz en ciertas modalidades de cáncer.

La radioterapia puede aplicarse utilizando un haz de electrones de alta energía dirigido al interior del tejido que necesita tratamiento (con una unidad de telecobalto o, más recientemente, con un acelerador lineal) o mediante la ingestión de una solución radiactiva que se deposita en el órgano a tratar (por ejemplo, en el tratamiento de la glándula tiroides).

#### **2.4.2 Usos industriales:**

La industria aprovecha la capacidad que las radiaciones tienen para atravesar los objetos y materiales y el hecho de que cantidades insignificantes de radionucleidos puedan medirse rápidamente y de forma precisa proporcionando información exacta de su distribución espacial y temporal.

Algunas de las aplicaciones más significativas de las radiaciones ionizantes en la industria son:

1. Medida de espesores y densidades.
2. Medida de niveles.
3. Medida del grado de humedad.
4. Gammagrafía o radiografía industrial.
5. Control de seguridad y vigilancia.
6. Detectores de humo.



7. Esterilización de materiales.
8. Eliminación de la electricidad estática.
9. Datación.
10. Detección de fugas.

### **2.4.3 Usos agroalimentarios:**

También son numerosas las aplicaciones de las radiaciones ionizantes en la agricultura y la alimentación:

- Desarrollo de cepas de cultivos y plantas alimenticias con mayor productividad y resistencia a la lluvia, las heladas o las plagas, que las especies originales.
- Control de insectos nocivos, como las moscas tse-tse en Zanzíbar; la de la fruta mediterránea en México, y la larva de la moscarda en el sur de Estados Unidos y el norte de África.
- Esterilización de material quirúrgico, así como de semillas o productos alimenticios para prolongar su durabilidad.
- Detección de humo en los hogares y locales públicos.
- Determinación de la eficacia de absorción de abono por las plantas para evitar el uso de fertilizantes químicos.
- Optimizar los recursos hídricos. Mediante el uso de sondas de neutrones se puede determinar la humedad de un terreno estableciendo así la cantidad de agua que le falta o le sobra para obtener una cosecha óptima, ahorrando con ello mucha agua.
- Control de plagas en determinadas áreas geográficas.
- Alimentación. Mediante la irradiación de rayos gamma, siempre bajo la supervisión de los organismos competentes y cumpliendo las normas establecidas, se prolonga el periodo de conservación de determinados alimentos.

## **CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Materiales**

El tipo de estudio de la presente investigación es transversal y comparativo.

Se analizaron los datos de un total de 40 personas, 20 de ellas con exposición a rayos X y las restantes sin exposición a los mismos, se formaron dos grupos de estudio, el de expuestos estuvo formado por técnicos de rayos X que laboraban en el área de imagenología de un laboratorio de análisis clínicos de la Ciudad de México, D.F., con edades comprendidas entre los 20 y 40 años, y con exposición de 1 hasta 20 años a la radiación. El segundo fue el grupo control, conformado por personas residentes de la misma ciudad, sin exposición a rayos X en su área laboral, cuyas edades y hábitos fueron similares a los del grupo de trabajadores expuestos.

El total de la muestra fue de 23 personas estudiadas (14 expuestos y 9 de control). Las personas que decidieron colaborar contestaron un cuestionario sobre información personal, de salud, antecedentes heredofamiliares, consumo de medicamentos, hábitos de alimentación así como historia de exposición laboral (Cuestionario Anexo 1).

#### **3.1.1 Criterios de inclusión**

##### **3.1.1.1 Grupo de expuestos**

- 14 personas de género indistinto
- Edad entre 20 y 40 años
- Ser técnicos de rayos X simples con exposición de 1 hasta 20 años.
- Jornada laboral mínima de 8 hrs.

##### **3.1.1.2 Grupo control**

- 9 personas sin exposición a agentes genotóxicos.

### **3.1.2 Criterios de exclusión**

- Ingesta de medicamentos.
- Antecedentes personales de enfermedades crónico degenerativas y cáncer.
- Desarrollo de patología mientras dure el estudio.

## **3.2 MÉTODOS**

### **3.2.1 Recolección de muestras:**

1. A cada uno de los integrantes de ambos grupos se les practicó una evaluación clínica integral, para lo cual se aplicó una historia médico ocupacional. Entre los antecedentes personales, se consideró el hábito tabáquico y consumo de medicamentos por algún tratamiento médico.
2. Se llevó a cabo raspado de mucosa oral para evaluar las lesiones en el ADN mediante la prueba de micronúcleos.
3. El material biológico procedente del raspado se obtuvo durante los meses de septiembre a octubre de 2008, se llevó a cabo la toma de dos muestras de epitelio oral de cada uno de los colaboradores.
4. La muestra obtenida se colocó en un portaobjetos y se fijó con CYTOFIX (solución fijadora para citología).
5. Se tomaron muestras de sangre venosa periférica para desarrollar el ensayo cometa.
6. Estas muestras se tomaron de enero a mayo de 2009, en tubos heparinizados.

### 3.3 DESARROLLO

#### 3.3.1 Prueba de micronúcleos

Micronúcleos del epitelio oral: Se llevó a cabo mediante la técnica recomendada por Countryman y Heddle (1976).

1. La prueba se realizó con una muestra del epitelio oral obtenida mediante un raspado de la parte interna de las mejillas (carrillos).
2. El material fue esparcido sobre un portaobjetos limpio.
3. Posteriormente se le aplicó una solución fijadora para citologías (Cyto Fix).
4. Se tiñó con 150 µl de naranja de acridina al 0.1% y se hicieron dos lavados con buffer de fosfatos (pH 6.8) de 1.5 min cada uno.
5. Para el análisis de imágenes, se contabilizaron un total de 1000 células por cada laminilla observada. (Kamboj, Zalacain, *op. cit.*), mismas que fueron analizadas con el microscopio de epifluorescencia Carl Zeiss, equipado con filtros conectado a una cámara Cool Snap Pro Color, se utilizó el programa Image Pro Plus 5.0.
6. Los datos se trataron estadísticamente con la prueba de "T de Student".

#### 3.3.2 Electroforesis unicelular o Ensayo cometa

Se realizó mediante la técnica de Singh *et.al.* (1998), que consistió en:

1. Las células sanguíneas (10 µl) se suspendieron en agarosa de bajo punto de fusión al 0.7% a 37°C.
2. Posteriormente se depositaron en un portaobjetos que previamente había sido cubierto con 150 µl de agarosa de punto de fusión normal al 0.7%.
3. Los portaobjetos se sumergieron en solución de lisis con pH 10 (2.5 M de NaCl, 100 mM de Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris, DMSO 10%, 1% Triton X-100) durante 24 horas a 4°C con el fin de romper la membrana celular y nuclear.
4. A continuación, se procedió con un tratamiento alcalino colocando los geles sobre una cámara de electroforesis, se agregó el buffer de electroforesis (300 mM NaOH, 1 mM Na<sub>2</sub>EDTA), hasta cubrirlos completamente, se mantuvieron a temperatura ambiente durante 20 minutos.

5. Transcurrido este tiempo, se llevó a cabo el proceso de electroforesis durante 20 minutos a 25 V y 300 mA esto con el fin de que el ADN dañado migrara.
6. Al terminar dicho proceso, se retiraron los geles y se lavaron con solución de neutralización (0.4 M Tris) en 4 ocasiones.
7. Finalmente se agregaron 50 µl de bromuro de etidio al 0.005% a cada gel y se les colocó un cubreobjetos.
8. En cuanto al análisis de imágenes, las observaciones fueron realizadas utilizando un microscopio de epifluorescencia Carl Zeiss equipado con filtros, conectado a una cámara Cool Snap Pro Color, se utilizó el programa Image Pro Plus 5.0 que permitió almacenarlas para su posterior análisis.
9. El nivel de daño se determinó por la longitud de la cauda del cometa.
10. En cada laminilla, el extendido y la distribución del daño del ADN indicado por el ensayo cometa se evaluó mediante la observación de 100 nucleoides aleatorizadamente seleccionados.
11. Se midió en cada uno de ellos su diámetro y la longitud de la cauda, con estos datos se obtuvo la relación cauda-núcleo.
12. Los datos se trataron estadísticamente con la prueba de "T de Student".

## CAPÍTULO 4:

## RESULTADOS

### 4.1 Historia clínica (Cuestionario)

Se hizo el examen médico a 20 técnicos de rayos X, de los cuales 14 cubrieron los requisitos mencionados en los criterios de inclusión, los 6 restantes quedaron excluidos.

En la tabla No. 3 se presentan los datos obtenidos en la encuesta realizada los 20 individuos, como puede observarse, los datos que no cubrieron con alguno de los criterios de inclusión planteados al inicio de este estudio que fue un total de 6, de los cuales, 4 fueron de sexo femenino y 2 de sexo masculino, con edades desde los 20 hasta los 35 años, con un promedio de exposición laboral de 9.1 años.

**Tabla 3: Resumen de la historia clínica del personal excluido del estudio**

Género	Total	AHF	APP	Medicamentos	APNP
2 masculino	6	DM 2 (2)	DM 2 (1)	Glibenclamida	Tabaquismo y alcoholismo social de forma esporádica
4 femenino		DM 1 (1)	Herpes Zoster (1)		
		HAS (4)	Embarazo molar (1)	Tratamiento hormonal	
		AR (1)	Aborto espontáneo (1)		
			Hiperuricemia e hipercolesterolemia (1)	Alopurinol	
			Hiperprolactinemia (1)	Tratamiento hormonal	
			Linfoma de Hodgkin (1)	Quimioterapia	
			HAS (1)	Clortalidona	

Fuente: Investigación de campo. (AHF: Antecedentes heredofamiliares; APP: antecedentes personales patológicos; APNP: antecedentes personales no patológicos; DM2: *Diabetes mellitus* tipo 2; DM1: *Diabetes mellitus* tipo 1; HAS: Hipertensión arterial sistémica; AR: Artritis reumatoide)

Respecto a los antecedentes heredofamiliares (AHF), 3 de ellos tienen familiares con *diabetes mellitus*, dos de ellos es del tipo 2 y uno de ellos del tipo 1, 4 con hipertensión arterial sistémica, y uno de ellos, padre con artritis reumatoide.

Entre los antecedentes personales patológicos, que fueron las principales causas de exclusión, uno de los trabajadores con *diabetes mellitus* tipo 2 bajo tratamiento médico con glibenclamida, otro técnico tenía antecedente de infección, 4 meses previos, con el virus de Varicela Herpes Zoster, una de las trabajadoras refiere antecedente de embarazo molar y aborto espontáneo, actualmente bajo tratamiento hormonal no especificado, otra de las trabajadoras refirió tratamiento con alopurinol por hiperuricemia, además hipercolesterolemia sin tratamiento médico.

Otra técnica de rayos X, refirió hiperprolactinemia, bajo tratamiento hormonal no especificado, otra de las trabajadoras presenta reciente diagnóstico de Linfoma de Hodgkin mediante biopsia, bajo tratamiento con quimioterapia, además antecedente de hipertensión arterial sistémica en tratamiento con clortalidona.

Cuatro de los técnicos valorados niegan tanto alcoholismo como tabaquismo, 2 de ellos los refieren de tipo social, en forma esporádica.

En la tabla No. 4 se incluyeron los datos de las personas expuestas a rayos X que cubrieron los criterios de inclusión, que fue un total de 14, de los cuales, 5 fueron de sexo femenino y 9 de sexo masculino, con edades desde los 20 hasta los 55 años, con un promedio de exposición laboral de 14.5 años.

Respecto a los AHF, 10 de ellos tienen familiares con *diabetes mellitus* tipo 2, 5 con hipertensión arterial sistémica, 3 con cáncer de tejidos diferentes (mama, hepático, cervicouterino) y uno de ellos con antecedente de Síndrome de Down en un familiar.

Entre los antecedentes personales patológicos, las enfermedades exantemáticas en la infancia fueron las que se presentaron en 6 de ellos, principalmente del tipo de varicela, sin complicaciones, una trabajadora refiere antecedente de teratoma de ovario a los 15 años de edad, recibió tratamiento quirúrgico, actualmente niega complicaciones, otra de ellas refiere quistes ováricos desde la adolescencia, actualmente sin tratamiento médico, niegan cualquier otra patología.

Todos refieren tabaquismo y alcoholismo de tipo social, en forma esporádica.

**Tabla 4: Resumen de la historia clínica del personal expuesto a rayos X incluidos en el estudio.**

Género	Total	AHF	APP	Medicamentos	APNP
9 masculino 5 femenino	14	DM2 (10) HAS (5) Cáncer (3) Síndrome de Down (1)	Exantemáticas en la infancia (6) Teratoma de ovario (1) Quistes ováricos (1)	Negados	Tabaquismo y alcoholismo social de forma esporádica

Fuente: Investigación de campo. (AHF: Antecedentes heredofamiliares; APP: antecedentes personales patológicos; APNP: antecedentes personales no patológicos; DM2: *Diabetes mellitus* tipo 2; HAS: Hipertensión arterial sistémica)

Como puede observarse, las enfermedades con mayor incidencia entre familiares de las personas de los grupos estudiados son *diabetes mellitus* tipo 2 e hipertensión arterial sistémica.

La *diabetes mellitus* es una enfermedad que en las últimas décadas ha mostrado incremento progresivo de su incidencia y prevalencia en todo el mundo, especialmente en el continente Americano. En México representa un problema de salud pública que afecta a todas las clases sociales, principalmente a la población de bajos recursos económicos asentada en las áreas urbanas. (Rodríguez, 2003). A principios del siglo XXI destaca la emergencia de la *diabetes mellitus* como el prototipo de las enfermedades crónicas ligadas al proceso de envejecimiento de la población, al incremento de la obesidad y a la adopción de nuevos patrones de comportamientos como los cambios en la dieta y la reducción de la actividad física. La *diabetes mellitus* es una pandemia en aumento constante (Vázquez, 2006)

La hipertensión arterial sistémica es la enfermedad crónica más frecuente en el mundo; afecta a 25 % de la población adulta y su proporción es mayor conforme se incrementa la edad.



En el Instituto Mexicano del Seguro Social, los dos principales motivos de demanda de atención lo constituyen la hipertensión arterial esencial y la *diabetes mellitus*. (Gómez, 2004)

Se hizo también el examen médico a 20 personas para el grupo no expuesto, cubrieron el perfil 9 personas y 11 fueron excluidas.

En la tabla 5 se exponen los resultados de las personas no expuestas, es decir, el grupo control, que fueron excluidas, de los cuales 6 fueron de sexo masculino y 5 de sexo femenino, con edades de los 20 hasta los 55 años.

**Tabla 5: Resumen de la historia clínica del personal no expuesto a rayos X no incluidos en el estudio.**

Género	Total	AHF	APP	Medicamentos	APNP
6 masculino 5 femenino	11	DM2 (7) HAS (3) Cáncer (2) IAM (2) Cirrosis hepática (1) Autismo (1)	Enfermedades exantemáticas (10) HAS (2) DM 2 (2) CaCu (1) Poliquistosis ovárica (1) Hepatitis A (1) Ciclos menstruales irregulares (2) Hipercolesterolemia /Hipertrigliceridemia (3)	Captopril Glibenclamida Metformina Tx hormonal Tx hormona Simvastatina	Tabaquismo 1 cajetilla al día (2) Tabaquismo y alcoholismo social

Fuente: Investigación de campo. (AHF: Antecedentes heredofamiliares; APP: antecedentes personales patológicos; APNP: antecedentes personales no patológicos; DM2: *Diabetes mellitus* tipo 2; HAS: Hipertensión arterial sistémica; IAM: Infarto agudo al miocardio; CaCu: Cáncer cervicouterino; Tx: Tratamiento)

En lo referente a los antecedentes heredofamiliares, 7 de ellos tienen familiares con *diabetes mellitus* tipo 2, 3 con hipertensión arterial sistémica, 2 con cáncer de tejidos diferentes (mama y laringe), uno de ellos con familiar con antecedente de infarto agudo al miocardio, uno de ellos con familiar con cirrosis hepática y uno de ellos con familiar con autismo.

Entre los antecedentes personales patológicos, las enfermedades exantemáticas en la infancia fueron las que se presentaron en 10 de ellos, principalmente del tipo de varicela, sin complicaciones, dos personas con hipertensión arterial sistémica bajo tratamiento médico, *diabetes mellitus* tipo 2, bajo tratamiento con glibenclamida y metformina, una con antecedente de Cáncer cervicouterino, tratamiento quirúrgico, bajo observación médica, una persona con poliquistosis ovárica e irregularidades menstruales bajo tratamiento hormonal, una con antecedente de hepatitis A hace 2 años aproximadamente y 3 personas con alteraciones lipídicas bajo tratamiento médico.

Dos personas con tabaquismo positivo desde los 17 y 22 años respectivamente, de 1 a 2 cajetillas al día, alcoholismo de forma ocasional.

En la tabla 6 se incluyeron los datos de las personas no expuestas que cubrieron los requisitos de inclusión y fueron agregadas al grupo de estudio, que fue un total de 9, de las cuales, 4 fueron de sexo femenino y 5 de sexo masculino, con edades desde los 20 hasta los 55 años, todos ellos trabajadores dentro del área administrativa y sin exposición a los rayos X.

**Tabla 6: Resumen de la historia clínica del personal no expuesto a rayos X incluidos en el estudio.**

Género	Total	AHF	APP	APNP
5 masculino 4 femenino	9	DM2 (5) HAS (4) Cáncer (3) IRC's (2) Dermatomiositis (2) Malformaciones vasculares (2)	Exantemáticas en la infancia (5) Hidrocele (1)	Tabaquismo y alcoholismo social en forma esporádica

Fuente: Investigación de campo. (AHF: Antecedentes heredofamiliares; APP: antecedentes personales patológicos; APNP: antecedentes personales no patológicos; DM2: *Diabetes mellitus* tipo 2; HAS: Hipertensión arterial sistémica; IRC's: Insuficiencia renal crónica secundaria)

Respecto a los antecedentes heredofamiliares, 5 de ellos tienen familiares con *diabetes mellitus* tipo 2, 4 con hipertensión arterial sistémica, 3 con cáncer, 2 con insuficiencia renal crónica secundaria, 2 de ellos con antecedentes familiares de dermatomiositis y 2 con malformaciones vasculares.

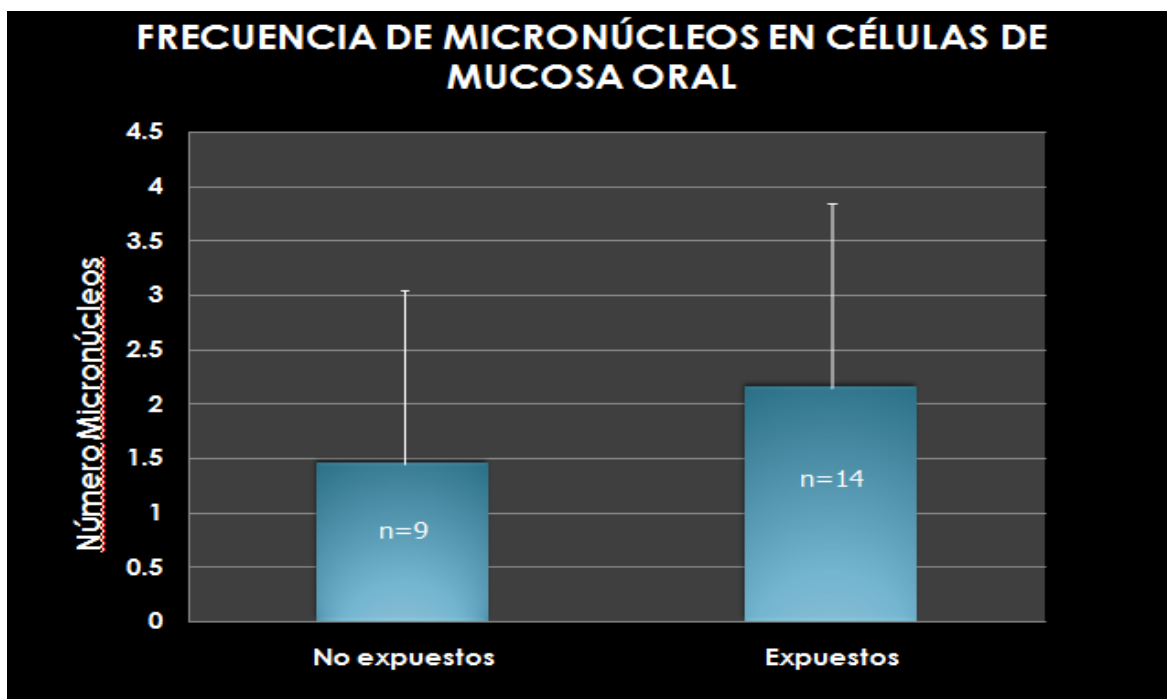
Entre los antecedentes personales patológicos, las enfermedades exantemáticas en la infancia fueron las que se presentaron en 5 de ellos, principalmente del tipo de varicela, sin complicaciones, un trabajador refirió antecedente de hidrocele, actualmente sin tratamiento médico, bajo observación.

Todos refieren tabaquismo y alcoholismo de tipo social, en forma esporádica.

## 4.2 Prueba de micronúcleos en la mucosa oral

La gráfica 1 se realizó con la media del recuento de 1,000 células epiteliales por individuo. Los datos se trataron estadísticamente con la prueba de “T de Student” que mostró una significancia en el límite para una cola con  $p < 0.05$  y  $p < 0.1$  para dos colas.

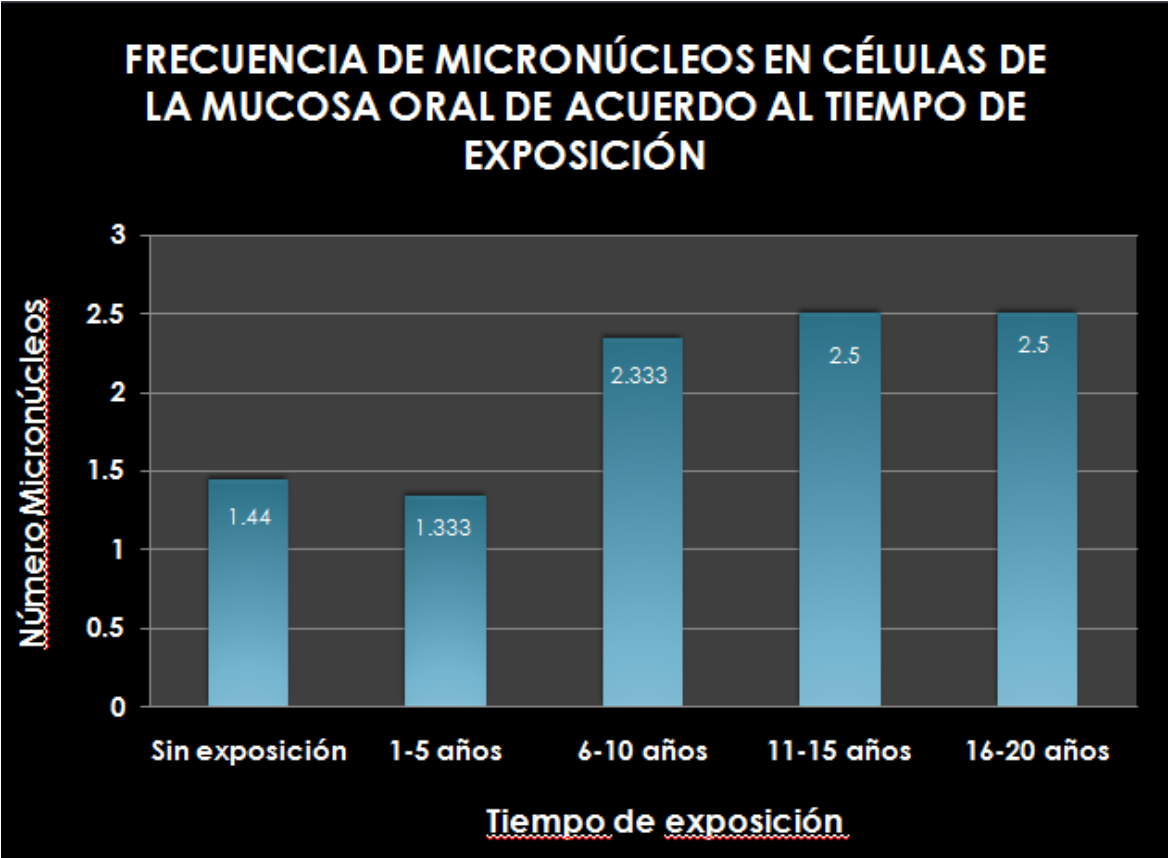
La primer barra representa el valor de MN obtenido en el grupo no expuesto, el cual fue de  $1.44 \pm 1.5$  MN, por el contrario, en el grupo de expuestos, la media fue de  $2.14 \pm 1.7$  MN, claramente, el valor del grupo expuesto fue mayor que el control, sin embargo, el análisis estadístico no mostró significancia (para una cola con  $p < 0.05$  y  $p < 0.1$  para dos colas).



**Gráfica 1: Frecuencia de Micronúcleos en células de la mucosa oral**

Con el fin de relacionar el tiempo de exposición con el biomarcador (MN), se dividieron los datos en intervalos de 5 años de exposición, y se calcularon los promedios para cada intervalo.

Como muestra la gráfica 2, la primer barra representa al grupo control, formado por 9 personas sin exposición a los rayos X, con un promedio de 1.4 MN, la segunda barra que representa al primer subgrupo del grupo de estudio, lo formaron 3 personas con exposición de 1-5 a, con un promedio de 1.3 MN, la tercer barra representa al segundo subgrupo formado por 3 personas con exposición de 6-10 años, con un promedio de 2.3 MN, la cuarta barra corresponde al tercer subgrupo conformado por 4 personas con una exposición de 11 a 15 años, con un promedio de 2.5 MN y la quinta barra representa al cuarto subgrupo de estudio con exposición de 16 a 20 años, con un promedio de 2.5 MN.

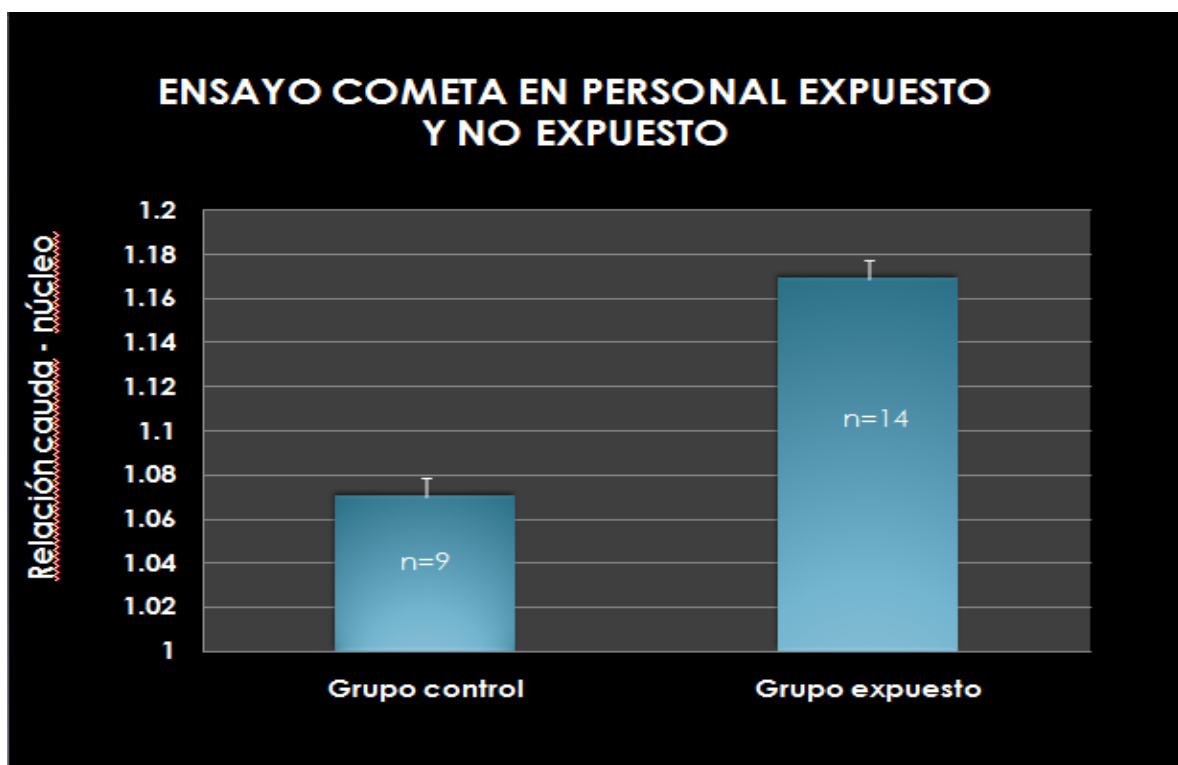


Gráfica 2: Frecuencia de Micronúcleos en células de la mucosa oral de acuerdo al tiempo de exposición

### 4.3 Ensayo cometa en leucocitos de sangre periférica

La gráfica 3 se realizó con la relación cauda-núcleo de las células que resultaron dañadas. Los datos se trataron estadísticamente con la prueba de “T de Student” que mostró un alto nivel de significancia:  $p < .005$  para una cola y  $p < 0.01$  para dos colas.

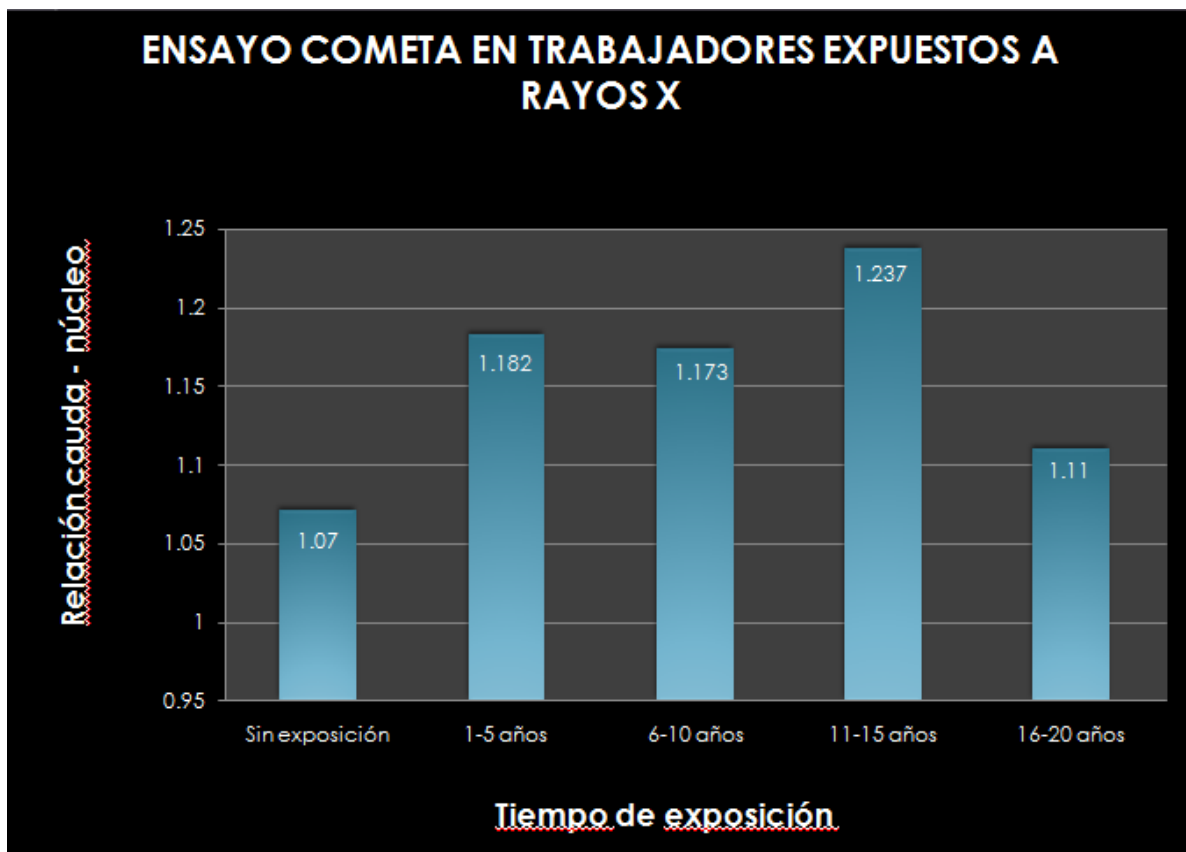
La primer barra representa la relación obtenida en el grupo control o no expuesto, el cual fue de  $1.07 \pm 0.008$ , por el contrario, en el grupo de expuestos, la media fue de  $1.16 \pm 0.08$ , claramente, el valor del grupo expuesto fue mayor que el control, resultando el análisis estadísticamente significativo ( $p < .005$  para una cola y  $p < 0.01$  para dos colas).



**Gráfica 3: Relación de electroforesis unicelular de leucocitos provenientes del grupo control y del grupo de estudio**

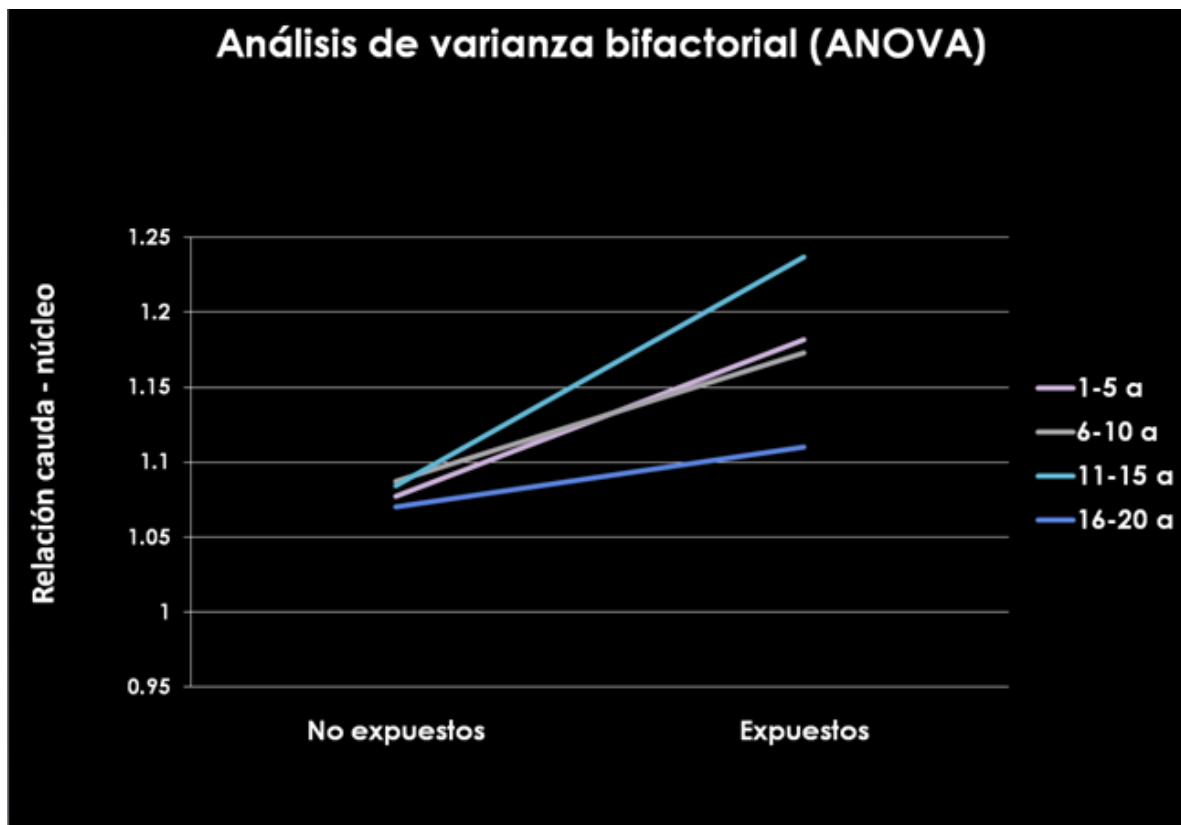
Con el objetivo de relacionar el tiempo de exposición con el ensayo cometa, se dividieron los datos en intervalos de 5 años de exposición, y se calcularon los promedios para cada intervalo.

Como muestra la gráfica 4, la primer barra representa al grupo control, formado por 9 personas sin exposición a los rayos X, con un promedio de 1.07 en la relación cauda-núcleo, la segunda barra, que representa al primer subgrupo del grupo de estudio, lo formaron 3 personas con exposición de 1-5 años, con un promedio de 1.18 en su relación cauda-núcleo, la tercer barra representa al segundo subgrupo formado por 3 personas con exposición de 6-10 años, con un promedio de 1.17 en su relación cauda-núcleo, la cuarta barra corresponde al tercer subgrupo conformado por 4 personas con una exposición de 11 a 15 años, con un promedio de 1.23 en su relación cauda-núcleos y la quinta barra representa al cuarto subgrupo de estudio con exposición de 16 a 20 años, con un promedio de 1.11 en su relación cauda-núcleo.



Gráfica 4: Ensayo cometa en trabajadores expuestos a Rayos X. “Prueba T de Student”;  $p < .005$  para una cola y  $p < 0.01$  para dos colas.

Con estos mismos resultados, se realizó un análisis de varianza bifactorial, el cual mostró que no hay diferencias significativas en el tiempo de exposición y los resultados obtenidos del ensayo cometa, como se observa en la gráfica 5, ya que el grupo de 11 a 15 años de exposición es el que presenta mayor daño y el grupo de 16 a 20 años de exposición el que presenta menor daño a comparación de los otros. Se observan interacciones entre los grupos 1 (1-5 años) y el grupo 2 (6-10 años), así como entre los grupos 2 (6-10 años) y 3 (11-15 años).



Gráfica 5: Análisis de varianza bifactorial



El ser humano vive en un mundo con radiactividad natural: recibe la radiación cósmica procedente del espacio y la del radón, procedente de la tierra; ingiere a diario productos naturales y artificiales que contienen sustancias radiactivas (en cantidades muy pequeñas), en sus huesos hay polonio y radio radiactivos, en sus músculos, carbono y potasio radiactivos, y en sus pulmones, gases nobles y tritio, también radiactivos.

Este conjunto de radiaciones naturales integra la radiación de fondo que depende de numerosos factores capaces de influir en la integridad cromosómica: el lugar donde se vive, los materiales de construcción de las viviendas, el estilo de vida, los cambios climáticos (por el debilitamiento de la capa de ozono), la composición del suelo, la estación del año, la latitud, los tratamientos médicos, algunos polimorfismos genéticos, etc. Por todo ello, es importante determinar qué se conoce como un nivel “aceptable” de daño genético en una población concreta, realizar ensayos de genotoxicidad de manera rutinaria y monitorizar a aquellos individuos que por su ocupación laboral o estilo de vida, se encuentran más expuestos o con mayor riesgo de sufrir alteraciones capaces de modificar su estabilidad genética (Zalacain, 2005).

Los daños a la salud en personas expuestas a los rayos X, se han observado a lo largo de la historia, por lo que se les ha catalogado dentro del cuadro de enfermedades ocupacionales en la Ley Federal del Trabajo.

Dentro del marco genérico de las respuestas individuales, la radiosensibilidad es una característica personal asociada con una reacción aumentada a las radiaciones ionizantes (Güerci, 2003, citado por Güerci, 2006). En cuanto a esta respuesta, es importante mencionar que hay notables diferencias entre los individuos. Ha sido observado que los efectos adversos que la caracterizan están influidos principalmente por la susceptibilidad genética a la radiación (Di Giorgio, 2001; Di Giorgio, 2003; citado por Güerci, 2006).

Por lo anterior, en este estudio se incluyó el grupo control, el cual está constituido por personas con características semejantes en lo que se refiere a edad, grupo étnico, exposición al ambiente, con excepción de la exposición a los rayos X, en el grupo de estudio se incluyeron el mayor número de individuos.

Se ha establecido que los tipos de radiaciones más tóxicas son las ionizantes, esto en lo que respecta a la salud humana. Si una radiación ionizante penetra en un tejido vivo, los iones producidos pueden afectar a los procesos biológicos normales.

La radiación ionizante puede afectar al ADN a través de la interacción directa entre el fotón y los enlaces moleculares, este daño también se puede dar mediante la producción de los radicales libres, que son los mediadores de dicho daño (Ward, 1985).

Los radicales libres son átomos, moléculas o compuestos que contienen un electrón no apareado. Pueden ser eléctricamente neutros o cargados positiva o negativamente.

En ese estado, el radical es extremadamente reactivo e inestable y entra en reacción con sustancias químicas inorgánicas u orgánicas (proteínas, lípidos, carbohidratos), en especial con moléculas clave de las membranas y con ácidos nucleicos. Los radicales libres inician reacciones autocatalíticas, por lo que las moléculas con las que reaccionan se convierten ellas mismas en radicales libres para propagar la cadena de lesión (Rodríguez A., 1994)

Los radicales libres se pueden *iniciar* en la célula mediante:

- Absorción de energía radiante (por ejemplo: luz ultravioleta, rayos X). Por ejemplo, la radiación ionizante puede hidrolizar el agua en radicales libres hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) e hidrógeno ( $\text{H}^\cdot$ ).
- Metabolismo enzimático de productos químicos o fármacos exógenos (por ejemplo, el tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) puede generar  $\text{CCl}_3$  y un ion  $\text{Cl}^\cdot$ ).

- Reacciones de reducción-oxidación que se producen durante los procesos metabólicos normales. Por ejemplo, durante la respiración normal, el oxígeno molecular es reducido secuencialmente mediante la adición de cuatro electrones para generar agua. En este proceso, se producen pequeñas cantidades de productos intermedios tóxicos; entre ellos se incluyen el radical anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y los iones hidroxilo ( $OH^-$ ).

Las células han desarrollado múltiples mecanismos para eliminar los radicales libres y, de esta manera, minimizar la lesión. Ellos son inestables de manera inherente y habitualmente desaparecen porque se termina el sustrato, por la intervención de antioxidantes, enzimas, etc., (Cotran, 2001).

Durante el metabolismo normal de las células se generan radicales libres que suelen ser muy reactivos y, por lo tanto, potencialmente dañinos. Los organismos han desarrollado mecanismos para atrapar a los radicales libres. Entre estos mecanismos están diversas enzimas que catalizan la conversión de oxígeno reducido ( $O_2^-$ ) a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y de éste a agua y oxígeno (Rodríguez, *op. cit.*).

Los productos reactivos generados a través del metabolismo interactúan con el ácido desoxirribonucleico, produciéndose lesiones premutagénicas, o aductos, que se fijan y producen mutaciones puntuales en el ADN.

Los mecanismos de reparación pueden funcionar antes o después de la replicación del ADN. Pueden reparar eficientemente, sin errores, situación que se presenta cuando la exposición a agentes genotóxicos es baja, o repara de manera ineficiente, promoviendo errores en el ADN, lo que depende de la saturación del primer mecanismo y que generalmente ocurre cuando hay exposiciones prolongadas y/o dosis altas (Rodríguez, ya citada).

La carcinogenicidad de la radiación ionizante, que se manifestó por primera vez a principios del siglo XX cuando aparecieron cánceres de la piel y leucemias en las primeras personas que trabajaron con la radiación, ha sido documentada por los excesos proporcionales a las dosis de numerosos tipos de neoplasias en pintores de esferas con radio, en mineros de galerías de roca viva, en sobrevivientes de la bomba atómica, en pacientes sometidos a radioterapia y en animales irradiados en experimentos de laboratorio (Cherry, 2001).

Ya se mencionó la inducción de alteraciones cromosómicas posterior a la exposición de radiaciones ionizantes como lo sucedido en Chernobyl, donde un sobrecalentamiento del núcleo del reactor nuclear provocó la explosión del hidrógeno acumulado en su interior. Algunas personas en las áreas contaminadas fueron expuestas a grandes dosis de radiación (de hasta 50 Gy) en la tiroides, debido a la absorción de yodo 131, que se encuentra en esa glándula. La incidencia de cáncer de tiroides en Bielorrusia, Ucrania y Rusia se ha elevado considerablemente. ([www.nea.fr/html/rp/reports/2003/nea3508-chernobyl.pdf](http://www.nea.fr/html/rp/reports/2003/nea3508-chernobyl.pdf))

Los estudios epidemiológicos para determinar si los riesgos de cáncer derivados de exposiciones a radiación de bajo nivel varían en función de la dosis no han llegado a conclusiones definitivas. Las poblaciones de zonas en las que existen niveles elevados de radiación de fondo natural no presentan aumentos de las tasas de cáncer atribuibles a ella de modo definitivo (UNSCEAR, 1994; Cherry, 2001); algunos estudios han sugerido una relación inversa entre niveles de radiación y tasas de cáncer (UNSCEAR, 1994).

Los efectos celulares producidos por exposición a radiación ionizante incluyen daño celular, mutaciones, inducción de transformación maligna y modificación en la expresión génica. Güerci (2008) menciona que la evaluación del daño radioinducido no debe limitarse sólo a la magnitud de la dosis y a los puntos impactados, sino también a la respuesta celular emitida consecuentemente.

Una condición indispensable para el desarrollo tumoral es la alteración en la secuencia del ADN o mutación. Las mutaciones pueden producir la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores tumorales (antioncogenes). Las radiaciones ionizantes tienen la capacidad de inducir mutaciones somáticas e incrementar la frecuencia de muchos tipos de tumores. Los pacientes con anomalías cromosómicas presentan una mayor predisposición a sufrir algún tipo de cáncer (Díaz Valecillos, 2004).

Establecer los niveles de daño al ADN en individuos y poblaciones es un criterio importante para caracterizar el riesgo de sufrir cáncer. El daño al ADN puede dar lugar a un incremento en la tasa de malformaciones congénitas cuando no se asocia al incremento de la esterilidad (Prieto, 1999). En este sentido, en este estudio se evaluó el daño en el ADN con dos indicadores de genotoxicidad con diferente sensibilidad, la prueba de MN y el ensayo cometa.

Baquero *et al.* (2004) llevaron a cabo un estudio sobre las aberraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes, los hallazgos sugieren que la exposición a bajas dosis de radiación ionizante (internacionalmente permitidas), puede ocasionar daños cromosómicos y está en relación directa con el tiempo de exposición y la sensibilidad individual, mas no con la cantidad de radiación recibida. Los autores encontraron un incremento del daño cromosómico al inicio de la exposición, que disminuyó con el tiempo, y sugieren que probablemente mejoran los mecanismos de reparación celular, como parte de un proceso adaptativo. Estos mecanismos disminuyen con el tiempo, lo que correspondería al envejecimiento celular, con disminución de los mecanismos de reparación y al tiempo prolongado de exposición.

Por otro lado, Díaz Valecillos y Fernández, 2004, encontraron que el mayor porcentaje de daño cromosómico ocurrió en personas con exposición durante 15 a 24 años.

La exposición anual a una dosis de rayos X por debajo del límite máximo permisible de 50 mSv por un periodo de 6 meses a 26 años, determinó rupturas cromosómicas que incluían cromosomas dicéntricos y anillos, estos resultados fueron parecidos a los encontrados por Villalobos y colaboradores en 1970, quienes estudiaron una población con igual antigüedad y encontraron el mayor porcentaje de anomalías cromosómicas entre aquellos que tenían entre 12 y 20 años de exposición.

Villalobos y col. (citado por Díaz Valecillos, 2004), analizaron *in vitro* a linfocitos de sangre periférica en personal de radiología de un hospital público y en personas no expuestas, encontraron alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales en cinco individuos expuestos a radiación ionizante a diferencia del grupo.

Los resultados obtenidos en la prueba de MN no mostraron diferencias estadísticas al comparar el grupo tratado con el grupo control, lo cual sugiere al menos dos posibilidades para explicarlos:

1. Probablemente los trabajadores han mejorado sus mecanismos de reparación, como un proceso adaptativo a la exposición constante a las radiaciones ionizantes en dosis bajas como lo proponen Baquero *et al.* (2004).
2. La sensibilidad del ensayo no es suficiente para detectar el daño cromosómico.

Las recomendaciones de organismos internacionales como la FDA y la OECDE incluyen la utilización de al menos dos ensayos de genotoxicidad para determinar el potencial genotóxico de algún xenobiótico, precisamente porque la sensibilidad de cada prueba es diferente.

En el presente estudio, además de la prueba de MN, también se realizó el ensayo de electroforesis de células individuales o ensayo cometa que es una técnica altamente sensible para evaluar el daño y la reparación del ADN en cualquier tipo celular eucariota (Horvátová, 2004). Permite detectar roturas de cadena simple y sitios sensibles al álcali que se originan durante la reparación por escisión de bases y de nucleótidos dando lugar a la cola del cometa, también es posible examinar la radiosensibilidad de poblaciones celulares tumorales.

Este ensayo ha sido ampliamente utilizado en linfocitos de sangre periférica para la evaluación del daño inducido por radiaciones ionizantes y podría ser considerado como un buen indicador de la radiosensibilidad individual, estas células no muestran una elevada capacidad de reparación del ADN hasta tanto no son estimulados a la proliferación celular. La respuesta a una dosis absorbida puede ser cuantificada desde una simple extracción sanguínea y su posterior análisis (Ayala, 2003).

El empleo del ensayo de electroforesis alcalina de células aisladas en gel de agarosa o ensayo cometa ha permitido establecer una detección rápida y sensible del daño al ADN generado por numerosos agentes genotóxicos como las radiaciones ionizantes. La ventaja de esta técnica con respecto a otras radica en el hecho de que emplea pequeñas poblaciones celulares sin que sea necesario que se encuentren en proliferación (Ayala, *op. cit.*).

En su estudio, Garaj-Vrhovac y Kopjar (2003), seleccionaron al ensayo cometa como un biomarcador para evaluar la exposición a radiación ionizante de 50 trabajadores médicos ocupacionalmente expuestos, además incluyeron un grupo control formado igualmente por 50 personas. El daño primario al ADN fue evaluado con la medición de la migración del ADN en leucocitos de sangre periférica. Se encontró que los trabajadores médicos que están expuestos a radiación ionizante por diferentes periodos de tiempo tuvieron un incremento significativo en los niveles de daño al ADN comparado con los controles.

Dos procesos permiten a la célula enfrentarse a una gran cantidad de daños que sufre su ADN. Si la lesión es amplia, la célula se encaminará hacia la apoptosis. Para las lesiones menos graves, las células han desarrollado mecanismos de reparación que hacen que el ADN recupere su estado indemne (reparación sin errores) o mejore aun cuando permanezca alterado (reparación propensa al error).

Una de las ventajas de los dosímetros citogenéticos es que estos dosímetros biológicos pueden ser evaluados en cualquier momento, a diferencia de los dosímetros físicos que no siempre están presentes en el sujeto, por lo que muchas veces los resultados que arrojan no son confiables. Los resultados obtenidos por los autores antes citados, confirman la utilidad del ensayo cometa como complemento a los estudios que se practican a las personas ocupacionalmente expuestas a la radiación (Garaj-Vrhovac, 2003).

Los resultados ya mencionados, concuerdan con los obtenidos por Maluf *et al.* (2001), donde indican la dificultad de establecer una relación dosis-respuesta para la exposición a bajas dosis de radiación. Otro de los problemas detectados por ellos, es que algunos trabajadores expuestos a rayos X laboran en otros hospitales y/o laboratorios con el mismo tipo de exposición, al tiempo que reportan un aumento en la frecuencia de micronúcleos y puentes dicéntricos en los linfocitos de trabajadores expuestos a rayos X.

Los trabajadores expuestos deben tener un seguimiento biológico adicional a la dosimetría. De tal forma que la prevención se debe convertir en la principal herramienta para la protección de los trabajadores expuestos crónicamente a bajas dosis de radiación ionizante, donde el seguimiento biológico forma parte importante de la vigilancia epidemiológica.

El daño al ADN constituye un factor de riesgo en el desarrollo del proceso de carcinogénesis, el cual es más acentuado en individuos cuya capacidad de respuesta está afectada por la ausencia de genes relacionados con la reparación.



1. Los resultados del daño al ADN detectado por las pruebas del Ensayo Cometa y Micronúcleos en personas expuestas laboralmente, muestran que, con la prueba de Micronúcleos no hay diferencia estadísticamente significativa, con el Ensayo Cometa si existe dicha diferencia.
2. No se observó relación entre daño al ADN y el tiempo de exposición.
3. El Ensayo Cometa presentó una mayor sensibilidad para detectar daños a nivel del ADN en comparación con el estudio de Micronúcleos.
4. Los resultados obtenidos del análisis de varianza pueden estar relacionados con muchos factores, como pueden ser el tamaño de la muestra en cada uno de los grupos, que probablemente fue insuficiente o bien, la división en cuanto a tiempos de exposición inadecuada.
5. Como demostraron Díaz Valecillos y Fernández la radiación ionizante, aún a bajas dosis, puede provocar alteraciones cromosómicas en trabajadores desprotegidos, por lo que es necesario establecer un sistema de supervisión de salud de los trabajadores expuestos a radiación, controles de ingeniería y administrativos así como un programa de educación continua.

## **CAPÍTULO 7:**

## **RECOMENDACIONES**

1. Capacitación frecuente a los trabajadores sobre los riesgos que se presentan con la exposición a radiación ionizante y a otros agentes genotóxicos.
2. Definir qué otros agentes genotóxicos pueden también provocar daño a nivel de ADN.
3. Llevar a cabo pláticas al personal laboral sobre la importancia del cuidado de la alimentación y su relación con alteraciones a nivel de ADN, de igual forma el tabaquismo, alcoholismo y otras drogas.
4. Establecer obligatoriamente un horario laboral máximo de exposición a la radiación de 8 horas al día.
5. Control estricto de dosimetrías externas para todos los trabajadores con exposición.
6. En la revisión médica anual, incluir datos sobre los resultados de dichas dosimetrías y de análisis de laboratorio, incluyendo en ellos el ensayo cometa. Hacer comparación con estudios anteriores y correlacionar clínicamente en caso necesario.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, ZA., Rodríguez SO, López GR. *Historia de la genética*. Revista UNAM. Página web: <http://www.revista.unam.mx/vol.1/num3/sabias1/index.html> < accesada el 08 octubre, 2007>.
- Álvarez, GRI. Efecto inhibitorio de la naringina contra la genotoxicidad producida por la ifosfamida y el metil metano de sulfonato *in vivo*. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, 2000, p. 15.
- Anónimo. La evolución de los seres vivos. En: Problemas filosóficos de las ciencias contemporáneas. 1989. En página web: <http://www.antorcha.org/fondo/darwin.htm>].
- Arias, C. La regulación de la protección radiológica y la función de las autoridades de salud. *Rev. Panam Salud Pública*. 2006;20(2/3): 188-97.
- Arias, C. Introducción a las Radiaciones en el contexto de la higiene y seguridad en el trabajo. 2006. En página web: [http://www.fi.uba.ar/dep\\_doc/77/RadiacionesIonizantes.pdf](http://www.fi.uba.ar/dep_doc/77/RadiacionesIonizantes.pdf). <Accesada el 17 agosto, 2007>.
- Barcelos, G.; Shimabukuro, F. Genotoxicity and antigenotoxicity of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in V79 cells. *Toxicology in vitro*. 2007; 21(8):1468-1475.
- Baquero, H.; Guevara, G.; Giraldo, M.; Osorio, M. Aberraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes. *Revista Ciencias de la Salud*. 2004;2(1):8-14
- Bellorín, M.; Fernández, J. Alteraciones cromosómicas en linfocitos humanos inducidos por rayos X. *Revista Académica Médica Zulia*. 2002; 43(3).
- Brandan, M.; Díaz, R; Ostrosky, P. La radiación al servicio de la vida. México. Fondo de Cultura Económica, 1995.

- Cavallo, D.; Iavicoli, I., *et al.* Genotoxic risk and oxidative DNA damage in workers exposed to antimony trioxide. *Environmental and Molecular Mutagen.* 2002. 40:184-189.
- Castillo, J. Análisis genotóxico, inmunotóxico y de los polimorfismos de la glutatión S-transferasa en floricultores expuestos a plaguicidas. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México. 2005, pp. 45- 46.
- Castro, R., Ramírez, V., Cuenca, P. Micronúcleos y otras anomalías nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Rev. Biol. Trop.* 2004; 52 (3):611-621.
- Cherry, R. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo de la OIT. Radiaciones ionizantes. Tercera edición. Madrid. España. Gestión Editorial Chantal Dufresne, BA. pp. 48.2-48.
- Cigarrán, S. Sensibilidad cromosómica y dosimetría biológica con técnicas de FISH. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México. 2002.
- Cortés, D. Seguridad e higiene del trabajo. Editorial Alfaomega. Tercera edición. 2001; pp. 376, 565, 568-578.
- Cotran, R.; Kumar, Vinay.; Collins, T. Patología estructural y funcional. McGraw Hill Interamericana. Sexta edición. 2001, pp. 13-15.
- Díaz-Valecillos, M.; Fernández, J. Alteraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes. *Invest. Clín.* 2004; 45 (3).
- De Luca, J.; MacIntyre, C. Exposición crónica a radiaciones ionizantes en tripulaciones de líneas aéreas comerciales. Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada. Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Diccionario terminológico de ciencias médicas. Editorial Salvat. 13ª edición. México, 1997; p. 821.
- Di Giorgio, M.; Nasazzi, N.; Taja, M. Micronúcleos: sensibilidad para la detección de daño radioinducido. Autoridad Regulatoria Nuclear Argentina, 1998, pp. 117-121.

- Di Giorgio, M.; Sardi, M.; Busto, E.; Vallerga, M.B.; Taja, M.R. Ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos como biosímetro de exposiciones *in vivo* agudas y crónicas. Congreso Regional de Seguridad Radiológica y Nuclear. Lima, Perú, 2003.
- Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo de la OIT. Radiaciones ionizantes. Tercera edición, 2001. Cap. 48. Gestión Editorial Chantal Dufresne, BA. Madrid.
- Fanjul, M; Galmozzi, C. La herencia y el nacimiento de la genética. Introducción a la Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar de Plata, Buenos Aires, Argentina, 2000, pp. 154,155.
- Garaj-Vrhovac, V.; Kopjar, N. The alkaline Comet assay as biomarker in assessment of DNA damage in medical personnel occupationally exposed to ionizing radiation. *Mutagen*. 2003; 18(3): 265-271.
- Gómez V.; Navarrete A., (et al). *Diabetes mellitus* e hipertensión arterial. Costo en estudios de laboratorio. *Rev. Med. IMSS*. 2004; 42 (4):331-335.
- Guízar, VJ. Genética clínica. Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias, México, Editorial Manual Moderno. 3a edición. 2001, p. 324.
- Güerci, AM., Zúñiga, LA., Dauder, RM. El valor predictivo del ensayo cometa en la evaluación de la radiosensibilidad individual en sangre periférica. *Theoria*, 2006;15(002):41-52
- Güerci, AM., Ponzinibbio, MV., Dodat, D., Martínez, M., Sánchez, G., Casas, o. Evaluación citomolecular del efecto vecindad en fibroblastos de pulmón bajo condiciones de exposición radioterapéutica. *Revista de Física Médica*. 2008; 9(1):19-24.
- He, J., Chen, W., Jin, L., Jin, H. Comet assay and cytokinesis-blocked micronucleus test for monitoring the genotoxic effects of X ray radiation in humans. *Chin Med J*. 2000; 113(10): 911-914.

- He, J., Chen, W., Jin, L., Jin, H. Comparative evaluation of the in vitro micronucleus test and the comet assay for the detection of genotoxic effects of X ray radiation. *Chin Med J.*2000; 469(2):223-231.
- *Historia de la genética.* Revista UNAM. En página web: <http://www.revista.unam.mx/vol.1/num3/sabias1/index.html> < accesada el 08 octubre, 2007>.
- Horvátová, E.; Dusinská, M. DNA damage and repair measured in different genomic regions using the comet assay with fluorescent *in situ* hybridization. *Mutagen.* 2004;19(4):269-276.
- Kamboj, M.; Majan, S. Micronucleus – an upcoming marker of genotoxic damage. *Clin Oral Invest.* 2007; 11:121-126.
- Kopjar, N., Garaj-Vrhovac, V. Assessment of DNA damage in nuclear medicine personnel-comparative study with the alkaline comet assay and the chromosome aberration test. *Int J Hyg Environ Health.* 2005; 208(3):179-91.
- Ley Federal del Trabajo. Publicaciones Administrativas Contables Jurídicas. México. 2008; pp. 210, 226.
- Lisker, R. Armendares, S. Introducción a la genética humana. Editorial Manual Moderno. Segunda Edición. México. 2001; p. 11.
- Maffei, F., Angelini, S. *et al.* Micronuclei frequencies in hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation: influence of smoking status and other factors. *Mutagen.* 2002; 17(5): 405-409.
- Maluf, SW., Passos, DF. *et al.* Assessment of DNA damage in lymphocytes of workers exposed to X-radiation using the micronucleus test and the comet assay. *Environ Mol Mutagen.* 2001; 38(4):311-5.
- El Manual Merck. Medicina Interna. Editorial Mosby, 11ª. Edición España, 2007.
- Martínez, DC., Fosado-Márquez, MG. Aspectos biológicos y médicos básicos sobre las radiaciones ionizantes. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México.* 1995; 52(11): 669-678.

- Norma Oficial Mexicana 012 (NOM-012-STPS-1993). Condiciones de Seguridad e Higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen manejen, almacenen o transporten fuentes generadoras o emisoras de radiaciones ionizantes. Secretaría del Trabajo y Previsión Social. 1993; p. 3.
- NTP 614. Nota Técnica de prevención 614: Radiaciones ionizantes: normas de protección. Sustituye NTP 304. Centro Nacional de Condiciones de trabajo. Ministerio de trabajo y asuntos sociales. España.
- NTP 304. Nota técnica de prevención 304: Radiaciones ionizantes: normas de protección, España, 1992.
- Prieto GE., Llópiz, N. Normalización de la electroforesis de células individuales (ensayo cometa). *Rev Cubana de Invest Biomed* 1999; 18(1):34-36
- Rodríguez AR. Las toxinas ambientales y sus efectos genéticos. México. Fondo de Cultura Económica. 1994; pp. 39-55, 59-61, 81-87.
- Rodríguez JR, López JM, et al. Características epidemiológicas de pacientes con diabetes en el Estado de México. *Rev. Med. IMSS*. 2003; 41(5):383-392.
- Rospigliosi, C. Propuesta para la creación del Instituto de Seguridad y Salud en el Trabajo para Latinoamérica y el Caribe. Federación Internacional de Trabajadores de las Industrias Metalúrgicas (FITIM). América latina, 2005.
- Smith, C. O'Donovan, R. hOGG1 recognizes oxidative damage using the comet assay with greater specificity than FPG or ENDO III. *Mutagen*. 2006; 21(3):185-190.
- Thierens, H.; Vral, A.; Morthier, R.; Aousalah, B.; De Ridder, L. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. *Mutagen*. 2000;15(3):245-249.
- Touil, N., Aka, PV. Et al. Assessment of genotoxic effects related to chronic low level exposure to ionizing radiation using biomarkers for DNA damage and repair. *Mutagen*. 2002; 17(3):223-232.

- UNSCEAR 2000, Vol II, Annex J. Exposures and effects of the Chernobyl Accident. Accesada el 08 octubre 2007. Disponible en <http://www.unscear.org/docs/reports/annexj.pdf>
- Vázquez JL, Gómez, H, Fernández S. *Diabetes mellitus* en población adulta del IMSS. Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2000. *Rev. Med. IMSS*. 2006; 44(1):13-26.
- Ward, JF. Biochemistry of DNA lesions. *Radiation research*. 1985, 104; 103-111.
- Zalacain, M., Sierrasesúmaga, L., Patiño, A. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales Universidad de Navarra*. 2005; Página de Internet: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/revis2.html> <Accesada el 19 de febrero, 2008>
- Zúñiga GG., Gómez MB. La prueba de micronúcleos. *Revista de divulgación científica de la Universidad Veracruzana*. 2006; 19(1). En página web: [www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/micronucleos/index.htm](http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/micronucleos/index.htm). <Accesada: 4 nov. 2007>