



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Datos generales:

Titulo del trabajo: Monitoreo de marcadores de daño genético por exposición a radiación ionizante (RX) en personal asistencial del Centro Nacional de Cirugía de Mínimo Acceso.

Nombre completo del autor: Antonia de la Caridad Remigio Montero

Grado académico: MSc Toxicología Pre clínica. Investigador Auxiliar.

Correo electrónico: antonia@cce.sld.cu

Nombre de la institución: Centro Nacional de Cirugía de Mínimo Acceso.

La Habana CUBA



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Título: Monitoreo de marcadores de daño genético por exposición a radiación ionizante (RX) en personal asistencial del Centro Nacional de Cirugía de Mínimo Acceso.

Resumen

La aparición de cáncer sigue en aumento. Existe evidencia científica de la incidencia en personas ocupacionalmente expuestas en el área médica, por lo que los estudios epidemiológicos proporcionan información que es necesaria para la evaluación de riesgos y el establecimiento de normas de protección radiológica, y también aumentan nuestra comprensión del proceso carcinogénico, por lo que se diseñó una investigación aplicada, explicativa de cohorte prospectiva con el objetivo de monitorear la presencia de daño biológico por exposición ocupacional en trabajadores de asistencia médica del Centro Nacional de Cirugía de Mínimo Acceso (CNCMA). El universo de estudio será el personal asistencial que labora en las áreas de mayor riesgo para la exposición a Rayos X, que cumplan los criterios de inclusión. La muestra estará conformada por 30 trabajadores de las áreas de riesgo del CNCMA y 30 trabajadores de áreas no expuestas, entre Julio del 2015 y Diciembre del 2017.

Se describirán las características basales de los grupos de estudio según variables biológicas y socio demográficas y se determinarán la incidencia de daño genético en trabajadores expuestos y no expuestos a riesgo biológico de radiaciones ionizantes según: la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal y la frecuencia de daño al DNA de linfocitos de sangre periférica. Con la investigación se espera contribuir al conocimiento científico, en relación a la protección a radiación ionizante en el personal médico expuesto.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Abstract

The occurrence of cancer is increasing. There is scientific evidence of the impact on occupationally exposed persons in the medical field, so that epidemiological studies provide information necessary for risk assessment and establishing radiation protection standards, and also increase our understanding of the carcinogenic process, what applied research, prospective cohort explanatory in order to monitor the presence of biological damage from occupational exposure in health care workers of the National Center for Minimal Access Surgery (CNCMA) was designed. The universe of study is the nursing staff working in the areas of greatest risk for exposure to X-rays, meeting the criteria for inclusion. The sample will consist of 30 employees from the areas of risk CNCMA workers and 30 unexposed areas, between July 2015 and December 2017.

The baseline characteristics of the study groups are described as biological and socio-demographic variables and identify the incidence of genetic damage in workers exposed and not exposed to biological risk of ionizing radiation as: frequency of micronuclei in exfoliated cells of the oral mucosa and the frequency of DNA damage of peripheral blood lymphocytes. The research is expected to contribute to scientific knowledge, in relation to protection of ionizing radiation in medical personnel exposed.

Palabras Clave

Genotoxicidad, micronúcleos, ensayo cometa, cancer, riesgo biológico, RX, daño ADN.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

I. Introducción

Antecedentes

Pocos años después del uso de las primeras radiografías para el diagnóstico médico, trabajadores del sector expuestos a radiación desarrollaron carcinomas superficiales, leucemia, dermatitis, cataratas, entre otros efectos adversos para la salud.

Durante los últimos 30 años, las más nuevas modalidades del imaging (como la tomografía computarizada, el examen de perfusión del miocardio entre otros procedimientos radiológicos) dramáticamente aumentaron. Estos procedimientos han proporcionado el inmenso beneficio clínico pero una ionización superior también las exposiciones de la radiación a los pacientes y médicos. La radiación médica comprende casi 50% ahora de la dosis de radiación de cápita, comparada con 15% en los tempranos años 80.

Las mutaciones son alteraciones en el material genético, que pueden ser causadas por errores durante la duplicación del ADN, en la división celular. La aparición de las mutaciones ocurre en todos los seres vivos, siendo un proceso fundamental para la evolución y diversidad de las especies. Muchas mutaciones no implican cambios detectables en la actividad metabólica de la célula en el organismo y por tanto, pasan desapercibidas. Otras mutaciones pueden determinar muerte celular y, por consecuencia no son también detectables. Así, apenas un pequeño número de mutaciones que ocurren en genes específicos pueden determinar un crecimiento desordenado de las células.

Los llamados agentes mutagénicos que alteran la secuencia de bases del ADN, pueden acelerar o aumentar la aparición de mutaciones que están asociadas al desarrollo de neoplasias. Al pasar por varias divisiones celulares, una célula podrá acumular mutaciones que, en un número elevado, podrá determinar la pérdida del control de su división, determinado, así, la aparición del cáncer.

Los mecanismos de mutagénesis y carcinogénesis parecen estar intrínsecamente ligados, una mutación es una consecuencia del daño al ADN y este puede ser un estadio inicial del proceso por el cual la mayoría de los carcinógenos químicos inicia la formación del tumor.

La literatura ha demostrado que mutaciones en varios genes críticos han sido encontradas como neoplasias. Los primeros genes identificados fueron los protooncogenes, mutaciones que ocurren en uno o pocos codones críticos, que pueden generar un producto génico activado que causa transformación celular.⁽¹⁾ Por otro lado, existen genes supresores de tumor que codifican proteínas esenciales para el control del crecimiento celular. Cuando esos genes son activados por una mutación, puede resultar un crecimiento celular aberrante.⁽²⁾



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Los conceptos de iniciación, promoción, progresión y manifestación de un tumor son resultantes de estudios realizados en carcinogénesis química.

Los primeros eventos en el proceso de carcinogénesis química incluyen la exposición a carcinógenos, su transporte a la célula, su activación a metabolitos activos (en caso de que el agente sea un pro carcinógeno), el daño en el ADN, llevando a mutaciones que resultan en una célula iniciada. Un hombre está expuesto repetidamente a mezclas químicas variables y complejas. Esas mezclas ambientales contienen tanto agentes iniciadores como promotores, como por ejemplo, el humo del cigarro y carcinógenos completos, teniendo tanto actividad iniciante como promotora.⁽³⁾

Las causas del cáncer son variadas, pudiendo ser endógenas u exógenas, estando, no obstante interrelacionadas. Las causas exógenas se relacionan con el medio ambiente y los hábitos o costumbres propias del ambiente social y cultural. Las causas endógenas son, la mayoría de las veces, genéticamente predeterminadas, y están ligadas a la capacidad del organismo de defenderse de las agresiones externas. Estos factores pueden interactuar de varias formas, aumentando la probabilidad de transformaciones malignas en las células normales.

De todos los casos de cáncer, el 80 al 90% están asociados a factores ambientales. Algunos de ellos son bien conocidos; como es el caso del cigarro en el cáncer de pulmón, la exposición excesiva al sol en el cáncer de piel, y algunos virus con la leucemia, otros están siendo relacionados con algunos componentes alimentarios; otros aun son completamente desconocidos.⁽⁴⁾

La toxicidad genética es una medida de carcinogenicidad, más frecuentemente usada como indicador para el cáncer, una vez que los ensayos de mutagenicidad miden un evento inicial o intermediario de la tumorigénesis,⁽⁵⁾ existiendo una alta asociación entre respuestas positivas en los ensayos de genética toxicológica y carcinogénesis, tanto en roedores como en humanos.^(6,7) Como resultado de esas consideraciones, los ensayos de toxicidad genética son utilizados, rutinariamente, para la evaluación del espectro toxicológico de compuestos químicos y medicamentos.

Los marcadores de efecto biológico permiten detectar efectos reversibles (cambios bioquímicos tempranos) e irreversibles (daños patológicos, genotoxicidad), provocados por la interacción de los agentes químicos con los órganos y moléculas blanco, que inciden negativamente en la salud del personal expuesto. Las pruebas de mutagenicidad, llamadas también pruebas a corto plazo por su relación predictiva respecto a la carcinogénesis experimental, están consideradas como una excelente opción en el área del monitoreo ambiental.⁽⁸⁾ Entre las características que hacen ventajosas dichas pruebas se pueden citar:⁽⁹⁾

- su alta sensibilidad que las hace costo-efectivas ⁽¹⁰⁾



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

- miden un efecto biológico relevante para la salud humana y, en el caso de algunos compuestos, pueden detectar su actividad mutagénica a concentraciones por debajo de las que pueden determinarse por métodos químicos analíticos.
- permiten, por su rapidez y economía, realizar muestreos secuenciales para caracterizar sitios contaminados.
- requieren de cantidades de muestra menores que las necesarias para experimentos que hacen uso de gran número de animales.
- por su sensibilidad y reproducibilidad pueden poner en evidencia pequeñas variaciones en la actividad mutagénica de efluentes o emisiones industriales, tras la introducción de un proceso nuevo o el cambio de materia prima, ^(9,11) con lo cual pueden contribuir a evitar impactos indeseables en los ecosistemas y en la salud humana.

Entre las técnicas más empleadas están el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales, micronúcleos y el intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica ^(9,12,13,14,15,16,17). A pedido del IPCS (Programa Internacional de Seguridad Química), estas metodologías han sido revisadas y actualizadas recientemente por un grupo de expertos ⁽⁸⁾. Como una limitación, es necesario señalar que prácticamente todos los marcadores citados son indicadores de efectos iniciadores de la tumorigénesis, por lo cual es necesario valorar también efectos promotores o identificar la exposición y los efectos tempranos ocasionados por carcinógenos no genotóxicos

Justificación

Hace cincuenta años, nuestro conocimiento del papel de la exposición a la radiación en el cáncer humano sólo estaba comenzando a emerger. La leucemia se había vinculado con la exposición de radiación externa en japoneses sobrevivientes de la bomba atómica y de las personas médicamente expuestas, el cáncer de pulmón relacionado con la exposición al radón en las minas subterráneas, el cáncer de piel con la exposición a la radiación en los radiólogos, y el cáncer de hueso con la exposición a radio en pintores. ⁽¹⁸⁾ Se desconocía si otros tipos de cáncer estaban relacionados con la exposición a radiación, y no hubo datos para cuantificar los riesgos de cáncer por la exposición a la radiación en diversos entornos.

El conocimiento de los riesgos de cáncer en los seres humanos ha avanzado enormemente en el último medio siglo. Gran parte de este conocimiento proviene de los estudios de los sobrevivientes de la bomba atómica en Hiroshima y Nagasaki, que ahora han sido seguidos por más de 50 años. Además, ahora hay una gran cantidad de datos de los estudios de las personas que han sido expuestas por razones médicas, ocupacionales o ambientales. Es importante destacar que muchos estudios han incluido grandes esfuerzos para estimar las dosis para sujetos individuales que permiten cuantificar el riesgo en función de la dosis, para evaluar cómo la edad y el género en la exposición podría modificar la relación dosis-respuesta, para examinar cómo cambia el riesgo como sujetos son seguidos en el tiempo, y para investigar las interacciones de la



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

radiación y otras exposiciones. Por lo tanto los estudios epidemiológicos proporcionan información que es necesaria para la evaluación de riesgos y el establecimiento de normas de protección radiológica, y también aumentan nuestra comprensión del proceso carcinogénico. Numerosos estudios han evaluado la mortalidad por cáncer o la incidencia en personas ocupacionalmente expuestas en las áreas nuclear, médica, la minería y las industrias de la aviación.⁽¹⁹⁾

Aún cuando se tomen medidas de seguridad para neutralizar los efectos tóxicos que la exposición médica pudiera ocasionar en los trabajadores, factores tales como:

- la permanencia en contacto durante toda la jornada laboral, en períodos de tiempo razonablemente largos (meses, años).

Hacen pensar en la necesidad de monitorear algunos marcadores de daño biológico por exposición en el personal médico, pues se trata de radiación ionizante de reconocida toxicidad, cuya acción como agentes mutagénicos, teratogénicos, trastornos reproductivos y carcinogénesis.

Este proyecto se propone estudiar las variaciones en indicadores de daño genético a nivel de ADN y cromosomas, detectables en linfocitos de sangre periférica y células exfoliadas de la mucosa bucal que pueden relacionarse con la exposición a radiación ionizante en trabajadores de la asistencia médica del Centro Nacional de Cirugía de Mínimo Acceso.(CNCMA)

Hipótesis de trabajo

La exposición a radiaciones ionizantes por parte del personal de asistencia médica que labora en las áreas de riesgo biológico del CNCMA está relacionada con la presencia de daño genético en los mismos.

OBJETIVOS

Los objetivos propuestos son los siguientes:

Objetivo general:

. Monitorear la presencia de daño biológico por exposición ocupacional en trabajadores de asistencia médica del CNCMA.

Objetivos específicos:

. Describir las características basales de los grupos de estudio según variables biológicas y socio demográficas.

. Determinar la incidencia de daño genético en trabajadores expuestos y no expuestos a riesgo biológico de radiaciones ionizantes según:

- Frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal.
- Frecuencia de daño al DNA de linfocitos de sangre periférica.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

II. Metodología

Clasificación de la investigación: Aplicada

Tipo de Estudio: Explicativa de cohorte prospectiva.

Selección de los sujetos.

Universo de trabajo

Se realizará un estudio con el personal asistencial que labora en las áreas de mayor riesgo para la exposición a Rayos X, entre Julio del 2015 y Diciembre del 2017. Incluye toda la información relativa a los riesgos a que se expone cada trabajador de acuerdo al área en que labora, así como las medidas de seguridad. En los locales se evaluará climatización, barreras de seguridad, medios y medidas de protección individual, y pasos a seguir ante accidentes. En las áreas donde existe exposición directa a RX laboran 30 trabajadores. Estas son: Salón de operaciones (Equipo Arco en C), Angiógrafo, Tomografía axial Computarizada (TAC) y RX. Además, se conformará un grupo de referencia, integrado por 30 individuos no expuestos del área de oficinas. Se redactará un informe en que aparezcan todos los datos relativos a las áreas de muestreo.

Criterios de inclusión

Cohorte expuesta: Trabajadores que laboran en las áreas de riesgo y Cohorte no expuesta: Trabajadores que laboran en departamentos de oficinas.

Consentimiento del trabajador para la realización del monitoreo propuesto.

Criterios de exclusión

- . Trabajadores que no consientan en seguir los pasos de este Proyecto.
- . Trabajadores con diagnóstico de Cáncer.
- . Gestantes.

Criterios de salida una vez comenzado el Proyecto:

En cualquiera fase del estudio, cuando el trabajador manifieste su voluntad de no seguir el monitoreo propuesto.

Dinámica de trabajo

El estudio se realizará con 30 trabajadores de las áreas de riesgo del CNCMA y 30 trabajadores de áreas no expuestas, entre Julio del 2015 y Diciembre del 2017.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Consideraciones éticas

De acuerdo con las consideraciones éticas que deben tenerse en cuenta en las investigaciones donde se involucran seres humanos, la participación en este estudio de monitoreo deberá ser siempre voluntaria y no representará un riesgo para la salud. Por lo cual este paso se realizará teniendo como base una reunión con todos los trabajadores en la que se informarán los antecedentes y objetivos del estudio, las medidas para evitar cualquier riesgo asociado al mismo y el uso que se dará a las muestras tomadas, incluyendo futuros análisis si los hubiere. También se explicará que la información personal estará debidamente protegida y el acceso a la misma será limitado. Cada participante tendrá derecho a ser informado de sus resultados individuales, acompañados de una interpretación competente. Los lineamientos éticos sobre experimentación en humanos ^(20,21) serán tenidos en cuenta. Se realizará una entrevista personal con cada trabajador, en la que se solicitará su conformidad para participar en el mismo. De ser afirmativo, el trabajador firmará un acta de consentimiento informado redactada de acuerdo a las Buenas Prácticas de Investigación Clínica ⁽²²⁾ y la Guía ICH Tripartita y Armonizada para la Buena Práctica Clínica, ⁽²³⁾ que se adhieren a los aspectos éticos recogidos en la Declaración de Helsinki. ²⁴ A continuación se llenará un cuestionario en que se tomarán datos personales, de estilo de vida, estado de salud y labor que desempeña. Se hará un análisis estadístico que incluirá: área, sexo, edad, tiempo de trabajo y hábito de fumar, entre otros, con lo cual se elaborará un informe parcial que se utilizará posteriormente en el análisis de los resultados.

La investigación deber ser aprobada de forma rigurosa por el Consejo Científico y la Comisión de Ética Médica del CNCMA.

Finalmente, el grupo de investigadores que conducirá el estudio pertenecen al CNCMA y al CIDEM con probada formación académica e investigativa, con experiencia en la conducción de ensayos pre-clínicos y en el monitoreo de poblaciones expuestas.

Registro de los grupos de muestreo.

Los datos obtenidos a partir de la encuesta individual se registrarán permanentemente mientras dure el estudio. Para ello se creará una base de datos utilizando el programa Access 97 de Microsoft Office, que tendrá como campos los distintos parámetros evaluados en la encuesta, a lo cual se adicionarán los resultados del estudio, es decir los valores obtenidos en los ensayos para los distintos marcadores de daño genético evaluados en cada trabajador. El acceso a la base de datos estará limitado mediante una contraseña a los trabajadores del Dpto. de Investigaciones Clínicas.

Procesamiento estadístico de la información

En el ensayo cometa, el indicador de daño es la migración promedio de DNA celular (en μm) para cada individuo. ⁽²⁵⁾ En la comparación estadística entre grupos se utilizarán las pruebas de Kruskal-Wallis y U de



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Mann-Whitey. El análisis multifactorial será usado en todos los casos para explorar la influencia de otros factores como edad, sexo y hábito de fumar.

En el ensayo de MN se calcula la frecuencia de células micronucleadas y con atipias nucleares por 1000 células, obteniéndose los promedios, errores estándares, por medio de una ANOVA de clasificación simple, luego se comparan los resultados entre la población expuesta y la no expuesta conociéndose de esta forma la magnitud de la alteración genética y dependiendo de ello reconocer la existencia de un daño potencial o efectivo para la salud.

Toda la información existente será vertida en una base de datos de Microsoft Access.

El análisis estadístico será realizado por una especialista de 1er Grado en Bioestadística. Se emplearán para realizar dicho análisis el programa estadístico SPSS para Windows (IBM-Versión 21) y el programa MedCalc (versión 4.15A). En la comparación de las características basales de ambas cohortes se emplearan pruebas estadísticas de comparación de medias (t de Student) para variables cuantitativas y chi cuadrado (χ^2 de independencia), en el caso de las variables cualitativas. Se utilizará como medida de asociación entre la exposición y el efecto, el riesgo relativo así como el intervalo de confianza para el mismo (95%). Así como la prueba χ^2 de asociación entre la exposición y el efecto y la probabilidad asociada a estos estadígrafos de prueba. Se ofrecerán los resultados de significación estadística obtenidos para estos coeficientes para un nivel $\alpha=0.05$ como significativo. Finalmente los resultados se presentarán de manera tabular y gráfica para facilitar su comprensión y análisis.

Muestreo

Se harán tres muestreos, espaciados un año entre sí. En cada uno de ellos se tomarán 10 ml de sangre del trabajador. Las jeringuillas se envolverán en papel metálico para proteger su contenido de la luz. También se muestrearán las células de la mucosa bucal con aplicadores estériles y codificados se deposita el raspado en tubos que contenga 2-3 mL de solución salina fisiológica (0.9%) se golpea ligeramente el aplicador, para facilitar el desprendimiento de las células exfoliadas. Las jeringuillas y los tubos con las células exfoliadas se conservarán en hielo hasta el regreso al CIDEM

Evaluación de la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal.

El ensayo de micronúcleos (MA) en células exfoliadas bucal es una técnica innovadora genotoxicidad, que es una promesa para el estudio de las sustancias cancerígenas epiteliales. Los micronúcleos son dosímetros internos idóneos para revelar el daño genotóxico específica de tejido en los individuos expuestos a mezclas cancerígenos. Este ensayo se ha utilizado desde la década de 1980 para demostrar los efectos citogenéticos



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

de las exposiciones ambientales y ocupacionales, factores de estilo de vida, deficiencias en la dieta, y diferentes enfermedades, junto con las características de micronúcleos y otras anomalías nucleares

Este ensayo constituye un proceder mínimamente invasivo para el estudio de daños en el ADN, la inestabilidad cromosómica, la muerte celular y el potencial de regeneración de tejido de la mucosa bucal humana. Este método se utiliza cada vez más en los estudios epidemiológicos moleculares para investigar el impacto de la nutrición, factores en el estilo de vida, la exposición a genotoxinas, daño al ADN, mala segregación cromosómica y muerte celular. ^(25,26) Los biomarcadores medidos en este ensayo se han asociado con un mayor riesgo de envejecimiento acelerado, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. Este protocolo describe uno de los métodos actuales establecidos para la recolección de células bucales, la generación de una suspensión de células individuales, la centrifugación, fijación y tinción con Giemsa y se leen al microscopio 1000 células consecutivas para evaluar la frecuencia de células micronucleadas. Los criterios de puntuación de micronúcleos y otras anomalías nucleares también se describen en detalle.

Se analizará la frecuencia de micronúcleos (MN) y los cambios nucleares (cariorrexis, cariólisis, huevo roto y binucleadas) en las células epiteliales bucales.

Ensayo Cometa para la detección de daño en el ADN y reparación en células individualizadas.

Se realizará en linfocitos aislados de sangre total según Singh 2000. ⁽²⁵⁾ Para el montaje de la técnica se seguirá lo descrito por Collins, 2004. ⁽²⁷⁾ La sangre se extraerá con jeringuilla plástica estéril previamente heparinizada y se guardará en viales Eppendorf de 1.5 ml, cubiertos con papel metálico, que se conservarán en refrigeración hasta el momento del ensayo. Las células se suspenderán en agarosa de bajo punto de fusión, que se extenderá sobre láminas de microscopía cubiertas con agarosa. Luego se lisan con detergentes en condiciones de alta fuerza iónica para liberar los núcleos. A continuación las láminas se incubarán en un buffer de electroforesis alcalino para desnaturar y desenrollar el ADN, así como facilitar la expresión de roturas de simple cadena en sitios alcali-lábiles. A continuación las láminas se someterán a electroforesis en el mismo buffer, se neutralizarán y se teñirán con bromuro de etidio. Luego se inspeccionarán en el microscopio de fluorescencia con objetivo de 40x y el daño celular se cuantificará por medición del tamaño de los cometas con un ocular graduado. ⁽²⁵⁾ El montaje de la técnica considerará la influencia de los distintos pasos antes mencionados en el resultado del ensayo, así como su adecuación a las condiciones de trabajo de nuestro laboratorio. Por cada individuo se evaluarán 100 células (cometas).



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

III. Resultados

IMPACTOS

El Impacto Científico estaría determinado por:

- Contribuir al conocimiento científico, en relación a la protección a radiación ionizante en el personal médico expuesto.
- Publicaciones científicas, reportes en congresos, con divulgación de resultados y salida como tesis doctoral.

El Impacto Económico estará dado por:

- Prevención del cáncer en trabajadores de la asistencia médica.

El Impacto Social estará dado por:

- Conservación de la calidad de vida en un grupo de alto riesgo.
- Desarrollar al centro como un lugar de alta especialización para el manejo de la exposición a radiación ionizante (RX).
- Sentar las bases para la introducción futura en el centro de otras técnicas de de mayor complejidad.

IV. Conclusiones

El resultado principal de este estudio proviene de la comparación entre los valores promedio de cada grupo (expuestos y referencia) para cada marcador de daño genético. Esto, analizado conjuntamente con los resultados de la encuesta, indica si la exposición derivada de las condiciones de producción habituales ha causado daños genotóxicos en células somáticas (linfocitos y mucosa bucal) de los trabajadores en algún momento a lo largo de 2.5 años de trabajo

V. Bibliografía.

- 1- Bishop JM. Molecular themes in oncogenesis. Cell 1991;(64): 235-248.
- 2- Marx J. Learning how to suppress cancer. Science 1993;(261): 1385-1387
- 3- Venitt S. and Phillips D.H. The importance of environmental mutagens in human carcinogens and germline mutation. In: Environmental Mutagens 1995; (Phillips D H, Venit S, eds.). BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, UK, pp. 1-20



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

- 4- Ribeiro L, Favero DM, Kanan E. La importancia de la mutagénesis ambiental y la carcinogénesis humana. In: Mutagénesis Ambiental 2003 (Editora ULBRA) Brasil, pp. 21-26
- 5- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990; 759-767
- 6- MaCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames BN. Detection of carcinogens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci 1975; 72:5135-5139
- 7- Purchase IFH, Longstaff E, Ashby J, Styles JA, Anderson D, Levevre PA, Westwood ER. An evaluation of 6 short-term tests for detecting organic chemical carcinogens. Br. J. Cancer 1978; 37: 873-959
- 8- Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, Natarajan AT, Norppa H, Shuker DEG, Tice R, Waters MD, Aitio A. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. Mutation Research 2000; 463: 111-172
- 9- Brusick D. Principles of Genetic Toxicology (Second Edition), Plenum Press, New York, 1987, pp. 155-157
- 10- Ennever FK, Rosenkranz HS. The influence of the proportion of carcinogens on the cost-effectiveness of short term tests. Mutation Research 1988; 197:1-13
- 11- Huisinigh JL, Bradow RL, Junger RH. Application of the bioassay to the characterization of diesel particle emission. En: Application of short-term bioassays in the fractionation and analysis of complex environmental mixtures. (Waters F, Hersinigh J, Sandhus CL, Eds.) EPA Health Effects Research Laboratory, Research Triangle Park, North Carolina, 1978, pp. 1-32
- 12- Norppa H, Luomahaara S, Heikanen H, Roth S, Sorsa M, Renzi L, Lindholm C. Micronucleus assay in lymphocytes as a tool to biomonitor human exposure to aneuploidogens and clastogens. Environmental and Health Perspectives 1993; 101(S3):139-143
- 13- Carere A, Antoccia A, Crebelli R, Degrassi F, Fiore M, Iavarone I, Isachi G, Lagorio S, Leopardi P, Marcon F, Palitti F, Tanzarella C, Zijno A. Genetic effects of petroleum fuels: cytogenetic monitoring of gasoline station assistants. Mutation Research 1995;(332):17-26
- 14- Penzich J, Motykiewicz G, Michalska J, Wang LY, Kostowska A, Chorazy M. Sister chromatid exchanges and high frequency cells in men environmentally and occupationally exposed to ambient air pollutants: an intergroup comparison with respect to seasonal changes and smoking habit. Mutation Research 1997;(381):163-170
- 15- Bolognesi C, Gallerani E, Bonatti S, De Ferrari M, Fontana V, Valerio F, Merlo F, Abbondandolo A. Sister chromatid exchange induction in peripheral blood lymphocytes of traffic police workers. Mutation Research 1997; (394):37-44
- 16- Lemasters GK, Livingston GK, Lockey JE. Genotoxic changes after low-level solvent and fuel exposure on aircraft maintenance personnel. Mutagenesis 1997; (12):237-243
- 17- Pitarque M, Carbonell E, Lapeña N, Marsá M, Valbuena A, Creus A, Marcos R. SCE analysis in peripheral blood lymphocytes of a group of filling station attendants. Mutation Research 1997; (390):153-159



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

- 18- Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *Journal of the National Cancer Institute* 1981; 66: 308-1191
- 19- Ethel S. Gilbert. Ionizing Radiation and Cancer Risks: What Have We Learned From Epidemiology?. *Int J Radiat Biol.* Jun 2009; 85(6): 467–482.
- 20- NRC (Nuclear Regulatory Commission) Protecting people and the environment. U.S.NRC 2006
- 21- CIOMS (Council for International Organization of Medical Sciences). Good Practice in Clinical investigation. 1993
- 22- ICH (International Commission on Harmonization). International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects. *Bull Med Ethics* 2002, Oct (182) 17-23.
- 23- ICH. (International Commission on Harmonization). Guidance on specific aspects of regulatory genotoxicity tests for pharmaceuticals. International Commission on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 1995.
- 24- Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013. [citado 28 Jul 2014]. Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policias/b3/>
- 25- Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S & Fenech M. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature protocols* 2009;(4): 825
- 26- Kashyap B, Reddy PS. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. *J Cancer Res Ther.* 2012 Apr-Jun;8(2):184-91
- 27- Collins AR. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations, *Mol. Biotechnol.* 26, 249–261.

Podrán incluir cuadros y figuras.



Figura 1. Apariencia de las células de metanuplios de *Artemia franciscana* en el ensayo cometa. A) Célula sin daño. B) Célula con daño. Escala: 10 µm.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”
Multidisciplinario
21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

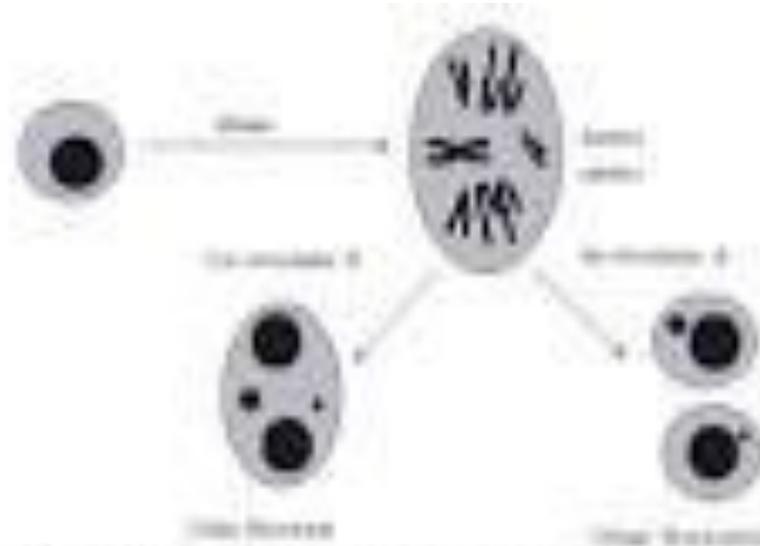


Figura 8. Imágenes de microscopía de fluorescencia de células e histocitos de mamíferos que se unen y se agregan en un agregado de células. El agregado muestra un núcleo con estructura de cromatina y un citoplasma con orgánulos. El agregado de células muestra un núcleo con estructura de cromatina y un citoplasma con orgánulos. El agregado de células muestra un núcleo con estructura de cromatina y un citoplasma con orgánulos.

