



Población y Salud en Mesoamérica

Estudio comparativo de biomonitoreo citogenético en personal veterinario expuesto ocupacionalmente a radiaciones ionizantes mediante el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis

Andrés Chaves Campos, Alejandra Vargas Gamboa, Vanessa Ramírez Mayorga, Patricia Mora Rodríguez, Melissa Abarca Ramírez y Luisa Valle Bourrouet

Cómo citar este artículo:

Chaves Campos, A., Vargas Gamboa, A., Ramírez Mayorga, V., Mora Rodríguez, P., y Abarca Ramírez, M. y Valle Bourrouet, L. (2022). Estudio comparativo de biomonitoreo citogenético en personal veterinario expuesto ocupacionalmente a radiaciones ionizantes mediante el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis. *Población y Salud en Mesoamérica*, 20(1). 10.15517/psm.v20i1.48074



ISSN-1659-0201 <http://ccp.ucr.ac.cr/revista/>

Revista electrónica semestral

Centro Centroamericano de Población

Universidad de Costa Rica

Estudio comparativo de biomonitoreo citogenético en personal veterinario expuesto ocupacionalmente a radiaciones ionizantes mediante el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis

Comparative study of cytogenetic biomonitoring in veterinary personnel occupationally exposed to ionizing radiation by cytokinesis-block micronucleus assay

Andrés Chaves Campos^{*1}, Alejandra Vargas Gamboa², Vanessa Ramírez Mayorga³, Patricia Mora Rodríguez⁴, Melissa Abarca Ramírez⁵ y Luisa Valle Bourrouet⁶

* Correspondencia

Resumen: Introducción: las radiaciones ionizantes (RI) pueden inducir la formación de micronúcleos (MN). La frecuencia de MN se utiliza como biomarcador de daño genético inducido por (RI). **Objetivo:** evaluar el daño al ADN resultante de la exposición ocupacional a RI en personal de clínicas veterinarias o afines. **Metodología:** se utilizó el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MNBC) para comparar la frecuencia observada del biomarcador en 40 individuos expuestos ocupacionalmente a RI con respecto a un grupo control de 32 participantes, ambos grupos pertenecen a personal veterinario. Además, se registraron variables demográficas, de estilo de vida y ocupacionales que pudieran influir en la formación de MN. **Resultados:** el análisis univariado no registró diferencias significativas en la frecuencia de MN entre los grupos de estudio ($p=0,118$). Mediante análisis multivariado se obtuvo que aproximadamente un 27% (R^2 ajustado= 0,269) de la variabilidad de la frecuencia de MN puede explicarse por la influencia conjunta de la edad, el sexo y el número de radiografías realizadas por el individuo. La edad es la variable de mayor importancia relativa ($\beta = 0,504$), seguida del sexo del participante ($\beta = -0,316$) y el número de radiografías realizadas por día ($\beta = 0,214$). **Conclusiones:** La frecuencia de MN tiende a aumentar en mujeres, a medida que aumenta la edad del participante y a mayor número de radiografías realizadas.

Palabras clave: ensayo de micronúcleos, radiación ionizante, pruebas de genotoxicidad, exposición ocupacional.

¹ Instituto de Investigaciones en Salud, Escuela de Tecnologías en Salud, Universidad de Costa Rica, San José, COSTA RICA fabio.chavescampos@ucr.ac.cr ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3066-5495>

² Instituto de Investigaciones en Salud, Universidad de Costa Rica, San José, COSTA RICA maria.vargas_gamb@ucr.ac.cr ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7949-5303>

³ Instituto de Investigaciones en Salud, Universidad de Costa Rica, San José, COSTA RICA vanessa.ramirez@ucr.ac.cr ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4104-3261>

⁴ Centro de Investigación en Ciencias Atómicas, Nucleares y Moleculares (CICANUM), Universidad de Costa Rica, San José, COSTA RICA patricia.mora@ucr.ac.cr ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8368-7308>

⁵ Instituto de Investigaciones en Salud, Universidad de Costa Rica, San José, COSTA RICA melissa.abarcaramirez@ucr.ac.cr ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6088-6371>

⁶ Instituto de Investigaciones en Salud, Universidad de Costa Rica, San José, COSTA RICA luisa.valle@ucr.ac.cr Universidad de Costa Rica ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8621-1604>

Abstract: Introduction: Ionizing radiation (RI) can induce the formation of micronuclei (MN). The formation of MN is used as a biomarker of radiation-induced genetic damage. **Objective:** assess DNA damage resulting from occupational exposure to RI in veterinary personnel. **Methodology:** the cytokinesis-block micronucleus assay (MNBC) was used to compare the observed frequency of MN in 40 individuals occupationally exposed to ionizing radiation with respect to a control group of 32 participants, both groups belonging to veterinary personnel. In addition, demographic, lifestyle and occupational variables that could influence the formation of MN were recorded. **Results:** univariate analysis did not show significant differences in the frequency of MN between the study groups ($p=0.118$). Using multivariate analysis, it was found that approximately 27% (adjusted $R^2= 0.269$) of the variability in the frequency of MN can be explained by the joint influence of age, sex and the number of radiographic images performed by the participant. Age is the variable with the greatest relative importance ($\beta = 0.504$), followed by the sex of the participant ($\beta = -0.316$) and the number of X-rays performed per day ($\beta = 0.214$). **Conclusions:** the frequency of MN tends to increase in women, as the participant's age increases and as the number of radiographic images performed increases.

Keywords: micronucleus assay, ionizing radiation, genotoxicity test, occupational exposure

Recibido: 14 ene, 2022| **Corregido:** 30 mar, 2022| **Aceptado:** 4 abr, 2022

1. Introducción

La práctica clínica en veterinaria ha mostrado una tendencia hacia la adopción cada vez mayor de técnicas radiológicas que facilitan el manejo y el desenlace de las patologías animales. En Costa Rica las técnicas de diagnóstico por imagen más utilizadas en veterinaria, que involucran el uso de radiaciones ionizantes (RI), son la radiografía y la tomografía computarizada (Camacho, 2017).

Ahora bien, la exposición a RI conlleva un riesgo a corto y largo plazo, de allí la importancia de contar con programas de monitoreo y vigilancia radiológica, los cuales generalmente se basan en un historial dosimétrico y exámenes periódicos de salud del personal ocupacionalmente expuesto (POE). Además, los estudios de toxicología citogenética brindan información valiosa y complementaria para evaluar el riesgo y guiar la toma de decisiones en favor de prevenir o atenuar la exposición a RI (Zakeri et al., 2017). Al respecto, distintas técnicas citogenéticas miden el daño inducido al ADN, entre ellas encontramos el ensayo de cromosomas dicéntricos, análisis de traslocaciones con FISH, el ensayo de condensación prematura de cromosomas, el ensayo de focos γ -H2AX o el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MNBC) (Baeyens et al., 2011; Falck, 2014; Milosević-Djordjević et al. 2010; Wolff et al., 2011), en este último se valora la frecuencia de MN como biomarcador de daño al ADN.

Luego de años de estudios epidemiológicos y clínicos, se tiene evidencia suficiente que vincula la exposición a RI con un efecto adverso en la salud. Las consecuencias de altas dosis de RI (aquellas por encima de 100 mGy) (Averbeck, 2009) están bien documentadas en accidentes a gran escala. A

bajas magnitudes (por debajo del límite de dosis de 20 mSv/año, comunes en radiodiagnóstico médico) la relación dosis-efecto se vuelve más compleja de describir (Vaiserman, 2010). Conforme a lo anterior, los riesgos radiológicos se circunscriben a efectos estocásticos esencialmente de tipo somático, representados sobre todo por un incremento a largo plazo en la incidencia de cáncer (Cardarelli y Ulsh, 2018; Huda, 2016).

El biomonitoreo de personal expuesto a RI se practica, en general, a través de métodos de dosimetría física, con instrumentos basados en los fenómenos de termoluminiscencia o estimulación óptica (Chang et al., 2021; Huda, 2016). Sin embargo, en casos donde no están disponibles, la vigilancia ocupacional mediante el uso de biomarcadores citogenéticos, como los MN, permite examinar el daño genético producido y brinda información valiosa para el fortalecimiento de los programas de protección radiológica y de las condiciones ocupacionales del personal (Shakeri et al., 2017; Soltanpour et al., 2017).

Así pues, el personal de salud expuesto a dosis bajas de RI está sujeto a elevaciones en la frecuencia de MN. Sari-Minodier et al. (2007) observaron una mayor frecuencia de MN en personal de distintas especialidades de la salud humana que trabajan con RI (radioterapia, medicina nuclear, hemodinamia, sala de operaciones), en comparación con personal no expuesto a RI del mismo hospital.

Sierra (2011) identificó una formación de MN más significativa en una cohorte expuesta (médicos ortopedistas) con respecto a otra no expuesta. Luego de seis meses los valores de la primera fueron equiparables a los de la segunda, como consecuencia de la adopción de medidas de radioprotección, lo cual refleja la importancia de implementar buenas prácticas de protección radiológica.

Asimismo, Zakeri y Hirobe (2010) refirieron una frecuencia superior de MN en POE frente a personal no expuesto. Dentro del POE, quienes trabajaban en laboratorios de cardiología intervencionista mostraron las mayores frecuencias de MN, pues en esta práctica se utilizan equipos fluoroscópicos (típicos en angiografía y cirugía ortopédica) y estos conducen a periodos de exposición más prolongados que en otros grupos (Thierens y Vral, 2009).

De ese modo, en medicina humana se ha determinado que la cercanía del personal a la fuente de RI y sin el uso de blindaje se traduce en una dosis elevada de exposición y un mayor daño cromosómico en contraste con el personal a una más amplia distancia de la fuente de radiación y protegido por la indumentaria plomada y el blindaje estructural de la sala de control del equipo emisor (El-Sayed et al., 2017; Narain et al., 2017; Yamada et al., 2020). A ese respecto, en radiología veterinaria es frecuente que el personal deba sujetar al animal durante el procedimiento radiológico, quedando expuesto directa o indirectamente al haz de radiación.

Tal como se ha descrito, a pesar de las múltiples investigaciones realizadas en biomonitorio por exposición a RI, estas se han centrado principalmente en POE del área de la medicina humana. De hecho, a nivel internacional no hay estudios propios del área de biomonitorio en personal de veterinaria basados en el MNBC y en Costa Rica tampoco existe ninguna publicación sobre el uso del MNBC en dicha temática; por ende, el presente trabajo constituye el primero de su tipo en el campo de la radiobiología y la radioprotección, cuyo propósito fue comparar la frecuencia de micronúcleos, como biomarcador de genotoxicidad, en grupos de personal veterinario expuesto y no expuesto a radiaciones ionizantes.

2. Referente teórico

2.1 Ensayo de micronúcleos en la evaluación de la genotoxicidad de las radiaciones ionizantes

El daño radioinducido al material genético puede ser registrado mediante distintos ensayos con biomarcadores citogenéticos, los cuales constituyen una herramienta auxiliar en la protección radiológica y un instrumento fundamental en el biomonitorio de poblaciones expuestas a RI (Pajic et al., 2017).

Entre los diferentes biomarcadores, la frecuencia de MN es ampliamente utilizada en investigación de genotoxicidad básica y aplicada, incluidas el área clínica y la dosimetría biológica, y se aplica en la evaluación de daño genético como consecuencia de riesgos ambientales u ocupacionales y como marcador de inestabilidad genómica (Torres-Bugarín et al., 2014). Al ser un biomarcador de efecto temprano, el MNCB permite la detección de daño genético incluso antes de que ocurran los posibles desenlaces patológicos producto de este daño.

Fenech y Morley (1985) describieron por primera vez el MNBC; esta técnica citogenética identifica células binucleadas con MN, las cuales se han dividido una vez. Las células son tratadas con citocalasina B, agente inhibidor del ensamblaje de microfilamentos, permitiendo la cariocinesis e inhibiendo la citocinesis durante la mitosis. Para este ensayo es común obtener muestras de linfocitos periféricos, sin embargo, también pueden utilizarse muestras de células epiteliales (mucosa bucal y nasal) y fibroblastos (Falck, 2014).

2.2 Causas de la inducción de micronúcleos por radiaciones ionizantes

La RI es capaz de producir rupturas de hebra simple (RSH) y de doble hebra (RDH) a través de mecanismos directos e indirectos. El efecto directo involucra la interacción directa del fotón o partícula con el ADN, se deposita la energía en los átomos constituyentes de la molécula y causa ionización y daño estructural. El daño indirecto se produce por la reacción de radicales libres

(principalmente radicales \bullet OH producto de la radiólisis del agua) con el ADN, lo cual lleva a la ruptura de los enlaces fosfodiéster (Giaccia et al., 2012; Kavanagh et al., 2013).

La respuesta celular a la exposición con RI aporta vías de reparación y estas solventan gran proporción de las lesiones radioinducidas en la molécula de ADN. Aún así, la posibilidad de que algunos de estos eventos no se reparen correctamente repercute en células con daños persistentes hacia la mitosis. La presencia de una o dos RDH en una misma molécula produce fragmentos acéntricos de ADN, que no podrán interactuar con los microtúbulos del huso mitótico y no serán segregados de forma apropiada durante la anafase, dando paso a la formación de MN (Fenech y Bonassi, 2011; Luzhna et al., 2013).

La formación de RSH juega un papel relevante en la inducción de MN, ya que si estas no son reparadas adecuadamente por escisión de bases (BER) podrían derivar en RDH (Khoronenkova y Dianov, 2015). Si una RSH se encuentra con una horquilla de replicación durante la fase S, hace colapsar la horquilla y se forma una RDH (Joiner y van der Kogel, 2019). La coincidencia de dos RSH a una distancia de hasta 10 pares de bases devendría en una RDH y en la interrupción en la continuidad de la molécula de ADN (Schipler y Iliakis, 2013).

Por tanto, se considera que el principal mecanismo en la formación de MN es la inducción de RDH y RSH por acción directa o indirecta de la RI, de donde aparecen fragmentos acéntricos, los cuales luego quedan rezagados en la anafase. Si bien, existen otros mecanismos que podrían contribuir en menor medida en la formación de esta aberración cromosómica, tales como la cromotripsis (Antonin y Neumann, 2016; Cannan y Pederson, 2016; Maher y Wilson, 2012; Morishita et al., 2016), la ruptura de cromosomas dicéntricos y la inestabilidad genética (Fenech y Bonassi, 2011; Sommer et al., 2020).

3. Metodología

3.1 Enfoque

La investigación es de enfoque cuantitativo, transversal, con un diseño analítico de tipo correlacional, ya que se analiza la influencia de distintas variables (demográficas, de estilo de vida y ocupacionales) y un efecto (frecuencia de micronúcleos) en dos grupos de estudio (expuesto y no expuesto a RI).

3.2 Población de estudio

La población en estudio estuvo conformada por el personal de clínicas veterinarias o tiendas de mascotas ubicadas dentro del Gran Área Metropolitana de Costa Rica, reclutados entre febrero de 2017 y agosto de 2019. Estos se distribuyeron de la siguiente manera:

Grupo A: 40 participantes encargados de la adquisición directa de radiografías y considerados como personal ocupacionalmente expuesto a RI.

Grupo B: 32 participantes no vinculados con la realización de radiografías y considerados como personal no expuesto ocupacionalmente a RI.

Los criterios de inclusión fueron ser mayor de 18 años y formar parte del personal de clínicas veterinarias o tiendas de mascotas ubicadas en el GAM. Los criterios de exclusión fueron haber padecido o padecer de cáncer en el momento del reclutamiento y haber recibido un examen radiológico en el último año previo a la toma de muestra.

El proyecto contó con la aprobación del Comité Ético Científico de la Universidad de Costa Rica (UCR). Todos los participantes leyeron y firmaron el consentimiento informado respectivo.

3.3 Técnicas de recolección

3.3.1 *Técnicas de recolección* *Recolección de datos de los participantes*

Se utilizó un instrumento de recolección de datos y se consultó a los participantes sobre datos personales, ocupacionales o de estilo de vida que pudieran influir sobre la frecuencia basal de MN (Dhawa y Bajpayee, 2013). Las variables contempladas para este estudio fueron la frecuencia de MN (número de MN/2000 células binucleadas), la exposición a RI (número de radiografías/día), años de exposición a RI, sexo (femenino o masculino), edad (en años cumplidos), consumo de alcohol (sí o no), fumado (sí o no), exposición a sustancias químicas (sí o no). Se comprendieron como sustancias químicas los desinfectantes de uso veterinario, los plaguicidas, los desparasitantes, los quimioterápicos y otras sustancias con conocido potencial efecto genotóxico.

3.3.2. *Recolección de muestras de sangre y cultivo celular*

Ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis

El ensayo MNBC se practicó según lo descrito en el Manual de Dosimetría Citogenética del Organismo Internacional de Energía Atómica (2014). A las 24 horas de iniciado el cultivo celular, se agregaron 20 μ L de una solución madre de citocalasina B a una concentración de 1,5 mg/mL (5 mg Cyt-B de Biochemica en 3,3 mL de DMSO de Sigma Aldrich).

Se procedió con el cultivo bajo las mismas condiciones durante 48 horas más, luego se lisaron los eritrocitos con 7 mL de KCl 0,075 mol/L frío (4 °C) para luego centrifugar inmediatamente a 1200 rpm durante 10 min. Se eliminó el sobrenadante y se añadieron 5 mL de fijador (metanol: ácido acético [10:1]) recién diluido 1:1 con solución de Ringer (4,5 g NaCl, 0,21 g KCl, 0,12 g CaCl₂ en 500 mL H₂O) y se agitaron las células a fin de impedir que se formaran grumos.

Después, se lavaron las células con fijador frío recién preparado hasta que la suspensión de células tomó un color blanquecino. En el último lavado, se retiró el sobrenadante hasta aproximadamente 1 mL por encima del botón celular, se resuspendieron las células delicadamente, se vertió gota a gota la suspensión con una pipeta de volumen fijo de 25 μ L sobre portaobjetos limpios, los cuales se dejaron secar al aire.

La tinción de las células se realizó en Giemsa al 2–6 % (1 mL Giemsa Steim en 40 mL de GURR Gibco a un pH de 6.8) durante 10 minutos, seguido de un rápido aclarado en agua destilada y secado al aire.

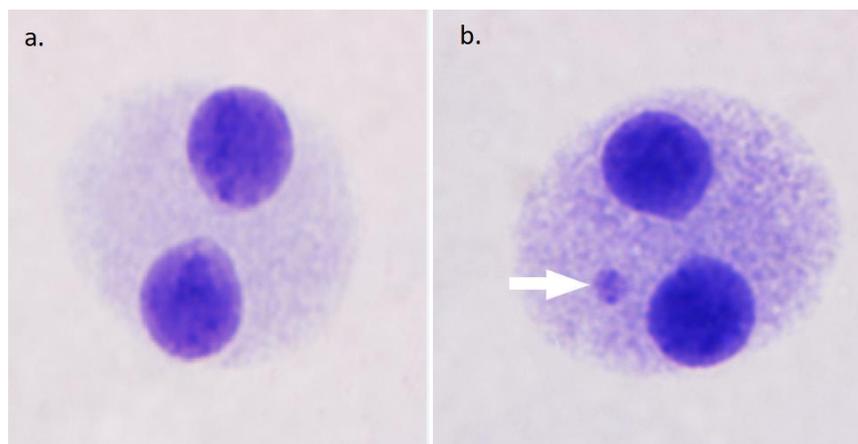
3.3.3. Análisis microscópico

Las preparaciones cromosómicas se analizaron con un microscopio ZEISS Axioskop 40, a un aumento de 40x, se verificaron las características de las células binucleadas que aparentaban presentar micronúcleos a un aumento de 100x. Se contaron 2000 células binucleadas de las preparaciones obtenidas de cada participante, 1000 por cultivo.

Los criterios para el conteo y el registro de células binucleadas con y sin micronúcleos en linfocitos de sangre periférica (figura 1) se realizaron según lo indicado por Fenech et al. (2003).

Figura 1

Análisis microscópico de células binucleadas



Nota: a) Célula binucleada sin presencia de micronúcleos. b) Célula binucleada con presencia de un micronúcleo (flecha blanca) (100x, INISA 2018).

3.4 Procesamiento de análisis

Se efectuó una estadística descriptiva de la muestra en estudio. Se verificó la normalidad y la homocedasticidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y de Levene.

Seguidamente, se realizó una transformación logarítmica de las frecuencias de MN y se compararon las medias de ambos grupos con la prueba t-student.

Para conocer si existían diferencias en la distribución de la variable edad entre los grupos expuesto y no expuesto, se utilizó la prueba U de Mann Whitney. En el caso de las variables sexo, consumo de alcohol, fumado y exposición ocupacional a sustancias químicas, se recurrió a la prueba chi-cuadrado de Pearson.

Con el propósito de identificar la influencia de las variables en estudio sobre la frecuencia de MN, se implementaron distintos modelos de regresión lineal múltiple, usando la modelación de encadenamiento hacia atrás. Con base en el valor del factor de inflación de la varianza (VIF, por sus siglas en inglés), los intervalos de confianza y en función de la variable que tuviese un mayor significado biológico, se seleccionaron las variables de los modelos preliminares. Después, los R² ajustados de los modelos elaborados fueron comparados y se eligió como modelo final el que presentó el mayor valor de R² ajustado.

En todas las pruebas se estableció el nivel de significancia estadística a un valor de $p < 0,05$. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software IBM SPSS Statistics, versión 22.0.

4. Resultados

Los participantes en el estudio laboraban en clínicas veterinarias y negocios afines especializados en la atención de especies menores (gatos, perros, conejos, aves de corral, entre otras). Los procedimientos radiológicos se ejecutaban en recintos cerrados y de acceso controlado. Dicho personal estaba expuesto a rayos X, a causa del uso de equipos de radiografía convencional; solo en una de las clínicas se contaba con un equipo de tomografía computarizada. En la tabla 1 se observan las variables analizadas de la muestra.

Tabla 1

Características de los grupos en comparación (n = 72)

| Variables | Grupos | | Valor de p |
|---|-------------------|-------------------|------------|
| | No expuestos | Expuestos | |
| Número de individuos | 32 | 40 | |
| Edad ($\bar{x} \pm SD$)^a | 36,0 \pm 12,0 | 28,4 \pm 7,3 | 0,002* |
| Sexo | | | |
| Masculino | 14 | 19 | |
| Femenino | 18 | 21 | 0,751** |
| Años de exposición ocupacional ($\bar{x} \pm SD$) | 0 | 4,7 \pm 5,0 | - |
| Radiografías por día ($\bar{x} \pm SD$) | 0 | 7,10 \pm 6,29 | - |
| Consumidores de alcohol^b | 14 (43,8%) | 32 (80,0%) | 0,001** |
| Fumadores^c | 3 (9,4%) | 5 (12,5%) | 0,495** |
| Exposición a agentes químicos^d | 10 (31,3%) | 20 (50,0%) | 0,234** |
| Frecuencia de MN^e ($\bar{x} \pm SD$) | 0,942 \pm 0,406 | 0,815 \pm 0,276 | 0,118*** |

^a $\bar{X} \pm SD$ (promedio \pm desviación estándar)

^b Consumen alcohol al menos 1-5 tragos por semana

^c Fumadores: al menos un cigarrillo al día

^d Exposición a: plaguicidas, sustancias de limpieza, etc.

^e Frecuencia de MN por cada 2000 células binucleadas expresada en log10

*U de Mann Whitney

**Chi-cuadrado de Pearson

***t-student

Según lo descrito, se observan diferencias significativas en la edad media entre los grupos de estudio (p = 0.002), existe menor frecuencia de consumo de alcohol en el grupo no expuesto (p = 0.001) que el grupo expuesto y no hay diferencias en la distribución de participantes fumadores entre ambos grupos de estudio (p = 0,495).

Dentro del personal encargado de realizar las radiografías, se registró la proporción que utilizaba dosímetro personal (17,5 %), la que había recibido capacitación en protección radiológica (35 %) y la que utilizaba equipo de protección plomada durante el procedimiento radiológico (95 %).

El análisis de regresión lineal múltiple intermedio (R^2 ajustado = 0.318), el cual incluye la variable fumado, muestra que el fumado no aporta a la variabilidad de los MN ($p = 0.174$).

En la tabla 2 se exhiben los resultados para el modelo de regresión lineal múltiple final para las variables intervinientes sobre la formación de MN. El modelo propuesto es estadísticamente significativo ($p = 0.000$), las variables edad en años cumplidos, sexo y exposición a RI explican alrededor de un 27 % de la variabilidad (R^2 ajustado = 0.269) de la frecuencia de MN expresadas en \log_{10} .

Tabla 2

Análisis de regresión lineal múltiple para las frecuencias de MN (\log_{10}) de la muestra estudiada ($n = 72$)

| Variables | Coeficientes de regresión | | p-valor | Intervalo de confianza | |
|----------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------|------------------------|-----------------|
| | β <i>estandarizado</i> | β no <i>estandarizado</i> | | <i>Inferior</i> | <i>Superior</i> |
| Edad | 0.504 | 0.017 | 0.000 | 0.010 | 0.024 |
| Sexo | -0.316 | -0.216 | 0.003 | -0.358 | -0.074 |
| Radiografías por día | 0.214 | 0.013 | 0.044 | 0.000 | 0.025 |

De acuerdo con los coeficientes β estandarizados para cada uno de los parámetros del modelo, se encontró que la edad es la variable con mayor significancia ($p = 0,00$), seguido del sexo ($p = 0,03$) y la cantidad de radiografías tomadas por día ($p = 0,044$).

La frecuencia de MN aumenta en 0,017 por cada año de vida cumplido, en 0,216 cuando el sexo del participante es mujer y en 0,013 por cada radiografía tomada.

5. Conclusiones

Sobre la base de los resultados del análisis univariado, se observó que, independientemente del sexo, no surgieron diferencias significativas en la frecuencia de MN entre los grupos expuesto y no expuesto. Al respecto, debe considerarse que en este tipo de análisis se comparan medias entre

dos grupos, sin tomar en cuenta el efecto de variables intervinientes o el efecto gradual de ellas sobre la variable dependiente.

De lo anterior se desprende la relevancia de haber efectuado un análisis multivariado con base en distintos modelos de regresión lineal múltiple, pues esto permitió evaluar la influencia de las variables intervinientes y conocer el efecto del nivel de exposición sobre la frecuencia de MN. En este caso se utilizó la variable cantidad de radiografías realizadas por día como indicador del nivel exposición a RI de cada participante. Si bien, una mayor cantidad de radiografías adquiridas podría asociarse con un mayor riesgo, es importante reconocer que este parámetro no considera distintas circunstancias que podrían incidir en tal fenómeno (nivel de radiación de fuga, técnica radiológica utilizada, tipo de tecnología del equipo utilizado, blindaje en la sala de rayos X, tasa de repetición de imágenes, entre otras).

El modelo de regresión lineal múltiple final demostró que variables personales y ocupacionales (edad, sexo y cantidad de radiografías por día) contribuyen a la formación de MN, por lo que es factible considerarlas como predictoras útiles del daño al ADN en personal veterinario. En efecto, aproximadamente el 27 % ($R^2 = 0,269$) de la variabilidad de la frecuencia de MN es atribuible al impacto conjunto de la edad, el sexo y el nivel de exposición ocupacional a RI, lo cual concuerda con lo informado en la literatura.

Por ejemplo, Sari-Minodier et al. (2007) observaron en una muestra de 132 trabajadores una influencia del sexo, la edad y el nivel de exposición a RI sobre la frecuencia de MN, donde el sexo femenino y la mayor edad fueron los factores con más impacto en el POE de distintas especialidades (medicina nuclear, radiología, hemodinamia, intervencionismo). Siama et al. (2019) registraron un aumento en la frecuencia de MN en un grupo de 33 tecnólogos de imagenología en comparación a un mismo número de personal no expuesto a RI; la formación de MN aumentaba conforme se incrementaba la edad del individuo y la cantidad de pacientes atendidos. Terzic et al. (2015) encontraron que, en un grupo de 56 trabajadores de medicina nuclear, los profesionales en imagenología de sexo femenino, con mayor edad, con mayores dosis de exposición anuales y más número de años de exposición ocupacional, tienden a presentar mayor frecuencia de MN. Así mismo, Qian et al. (2016) evidenciaron un aumento significativo de la frecuencia de MN en una muestra de 1392 trabajadores hospitalarios expuestos a RI con respecto a 143 no expuestos, al igual que una asociación positiva entre la frecuencia de MN y la dosis acumulada de exposición a RI.

En nuestro estudio, la edad fue la variable más relevante en el aumento de la frecuencia de MN ($CE \beta = 0,504$). En ese sentido, se ha informado con anterioridad que conforme avanza la edad del individuo los mecanismos celulares de reparación del ADN son menos eficientes, en consecuencia, se acumulan mutaciones que a su vez producen inestabilidad genética y esto se reflejaría en una

elevación de la frecuencia de MN (Ferraz et al., 2016). La mayor proporción de estos MN se produce por mecanismos aneugénicos asociados principalmente a la segregación aberrante de los cromosomas X y Y (Fenech y Bonassi, 2011; Guo et al., 2019; Norppa y Falck, 2003).

El sexo fue otro factor determinante en la formación de MN ($CE \beta = -0,316$). Diversos estudios concluyeron que las mujeres presentan una frecuencia significativamente mayor de MN en linfocitos periféricos con respecto a los hombres, diferencias explicadas por mecanismos aneugénicos, debido sobre todo a defectos en el cinetocoro, lo cual conduce a una tendencia del cromosoma X de quedar rezagado en anafase y ser incluido con mayor frecuencia en MN, en comparación con autosomas y el cromosoma Y (Catalán et al., 2000; Ferraz et al., 2016; Luzhna et al., 2013).

En el presente trabajo, la cantidad de radiografías realizadas a diario por el personal expuesto también repercutió en la frecuencia de MN ($CE \beta = 0,214$). Una mayor cantidad de radiografías practicadas podría vincularse con una mayor dosis de exposición, para confirmarlo se requeriría la información del historial dosimétrico, sin embargo, solo un 17,5 % del grupo en estudio contaba con dosímetro. Dicho eso, los resultados obtenidos se ajustan a lo descrito en la literatura: el daño radioinducido al ADN es un fenómeno estocástico, cuya probabilidad aumenta con respecto a la dosis de RI (Baeyens et al., 2011; Duncan et al., 2018; Durante y Formenti, 2018; Kang et al., 2016; Pajic et al., 2017; Rastkhah et al., 2016; Ryu et al., 2016).

Ahora, los MN asociados a factores como la edad y el sexo corresponden a alteraciones de tipo numérico (efecto aneugénico); mientras que los MN producto de las RI responden a alteraciones de tipo estructural (efecto clastogénico). En este estudio no se diferenció el tipo de alteración que dio origen a los MN observados. Por ello, una mejor clasificación del origen de los MN mediante sondas pancentroméricas aumentaría la sensibilidad de la prueba para detectar daño al ADN inducido por exposición a RI.

De igual forma, sería recomendable que en estudios posteriores se utilicen otras pruebas citogenéticas complementarias al MNBC, como el ensayo de cromosomas dicéntricos, que permitan describir con mayor amplitud el efecto genotóxico de la exposición ocupacional las RI a bajas dosis en personal de veterinaria.

La adquisición de imágenes diagnósticas que involucran el uso de RI es una práctica común en la veterinaria, no obstante, el empleo integral de la protección radiológica (uso correcto del dosímetro, indumentaria plomada, capacitación continua, etc.) fue limitado en la muestra en estudio. Por ejemplo, como consecuencia de la falta de uso de dosímetros personales, parte del POE de la muestra no conocía la dosis de radiación recibida en su práctica laboral.

En definitiva, se reconoce la necesidad de contar con biomarcadores de genotoxicidad ocupacional en la toma de decisiones a fin de evitar o atenuar la exposición a RI, así como para su aplicación complementaria a la dosimetría física o en casos en que este método se encuentre ausente. Así, dentro de las pruebas citogenéticas utilizadas en biomonitoreo ocupacional, el MNBC resulta una herramienta valiosa en la estimación del riesgo radiológico en el POE a bajas dosis, en tanto permite orientar acciones preventivas.

6. Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Vicerrectoría de Investigación de la UCR (proyecto #742-B6-325). Agradecemos a todos los participantes del estudio. A la Dra. Isabel Castro-Volio, q.e.p.d., quien fue investigadora de la Sección de Genética y que además inició la investigación en toxicología de las radiaciones ionizantes, ella motivó la realización de la presente investigación. Al personal técnico, administrativo y estudiantes asistentes del INISA por su apoyo logístico a la realización de la investigación.

7. Referencias

- Antonin, W. y Neumann, H. (2016). Chromosome condensation and decondensation during mitosis. *Current Opinion in Cell Biology*, 40, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2016.01.013>
- Averbeck, D. (2009). Does scientific evidence support a change from the LNT model for low-dose radiation risk extrapolation?. *Health Physics*, 97(5), 493–504.
- Baeyens, A., Swanson, R., Herd, O., Ainsbury, E., Mabheng, T., Willem, P., Thierens, H., Slabbert, J. P. y Vral, A. (2011). A semi-automated micronucleus-centromere assay to assess low-dose radiation exposure in human lymphocytes. *International Journal of Radiation Biology*, 87(9), 923–931. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.577508>
- Camacho, A. (2017). *Propuesta para el fortalecimiento del servicio de radiología del Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Universidad Nacional de Costa Rica, a partir del diagnóstico de los procedimientos empleados para los diferentes estudios, durante el período 2016-2017* [Tesis de licenciatura]. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Cannan, W. y Pederson, D. (2016). Mechanisms and Consequences of Double-strand DNA Break

Formation in Chromatin. *J Cell Physiol*, 231(1), 3–14. <https://doi.org/10.1002/jcp.25048>

Cardarelli, J. y Ulsh, B. (2018). It is time to move beyond the linear no-threshold theory for low-dose radiation protection. *Dose-Response*, 16(3). <https://doi.org/10.1177/1559325818779651>

Catalán, J., Surrallés, J., Falck, G., Autio, K. y Norppa, H. (2000). Segregation of sex chromosomes in human lymphocytes. *Mutagenesis*, 15(3), 251–255. <https://doi.org/10.1093/mutage/15.3.251>

Chang, D., Foster, L., Das, I., Mendonca, M. y Dynlacht, J. (2021). *Basic Radiotherapy Physics and Biology*. Springer Nature. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-61899-5>

Duncan, J., Lieber, M., Adachi, N. y Wahl, R. (2018). Radiation dose does matter: Mechanistic insights into DNA damage and repair support the linear no-threshold model of low-dose radiation health risks. *Journal of Nuclear Medicine*, 59(7), 1014–1016. <https://doi.org/10.2967/jnumed.118.210252>

Durante, M. y Formenti, S. (2018). Radiation-induced chromosomal aberrations and immunotherapy: Micronuclei, cytosolic DNA, and interferon-production pathway. *Frontiers in Oncology*, 8, 192–202. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00192>

El-Sayed, T., Patel, A., Cho, J., Kelly, J., Ludwinski, F., Saha, P., Lyons, O., Smith, A. y Modarai, B. (2017). Radiation-Induced DNA Damage in Operators Performing Endovascular Aortic Repair. *Circulation*, 136(25), 2406–2416. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029550>

Falck, G. (2014). *Micronuclei in Human Peripheral Lymphocytes – Mechanistic Origin and Use as a Biomarker of Genotoxic Effects in Occupational Exposure* [Tesis doctoral]. Universidad de Helsinki, Finlandia.

Fenech, M. y Bonassi, S. (2011). The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*, 26(1), 43–49. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq050>

Fenech, M. y Morley, A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147(1), 29–36. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(85\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(85)90015-9)

Ferraz, G., Costa, A., Cerqueira, E. y Meireles, J. (2016). Effects of age on the frequency of micronuclei and degenerative nuclear abnormalities. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 19(4), 627–634. <https://doi.org/10.1590/1809-98232016019.150155>

Giaccia, E., Hall, J. y Amato, J. (2012). *Radiobiology for the radiologist*. Lippincott Williams y Williams.

Guo, X., Ni, J., Liang, Z., Xue, J., Fenech, M. y Wang, X. (2019). The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age-old problem. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 779, 1-35. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.11.001>

Huda, W. (2016). *Review of radiologic physics*. Wolters Kluwer.

Joiner, M. y van der Kogel, A. (2019). *Basic Clinical Radiobiology*. CRC Press.

Kang, C., Yun, H., Kim, H. y Kim, C. (2016). Strong correlation among three biodosimetry techniques following exposures to ionizing radiation. *Genome Integrity*, 7(11). <https://doi.org/10.4103/2041-9414.197168>

Kavanagh, J., Redmond, K., Schettino, G. y Prise, K. (2013). DSB Repair - A radiation perspective. *Antioxidants y Redox Signaling*, 18, 2458–2472. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5151>

Khoronenkova, S. y Dianov, G. (2015). ATM prevents DSB formation by coordinating SSB repair and cell cycle progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(13), 3997-4002. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416031112>

Luzhna, L., Kathiria, P. y Kovalchuk, O. (2013). Micronuclei in genotoxicity assessment: From genetics to epigenetics and beyond. *Frontiers in Genetics*, 4. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00131>

Maher, C. y Wilson, R. (2012). Chromothripsis and human disease: Piecing together the shattering process. *Cell*, 148(1), 59-71. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.006>

Milosević-Djordjević, O., Grujicić, D., Vasković, Z. y Marinković, D. (2010). High micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes of untreated cancer patients irrespective of gender, smoking and cancer sites. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 220(2), 115–120. <https://doi.org/10.1620/tjem.220.115>

Morishita, M., Muramatsu, T., Suto, Y., Hirai, M., Konishi, T., Hayashi, S., Shigemizu, D., Tsunoda, T., Moriyama, K. y Inazawa, J. (2016). Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system. *Oncotarget*, 7(9), 10182–10192. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7186>

Narain, A., Hijji, F., Yom, K., Kudaravalli, K., Haws, B. y Singh, K. (2017). Radiation exposure and

reduction in the operating room: Perspectives and future directions in spine surgery. *World Journal of Orthopedics*, 8(7), 524-530. <https://doi.org/10.5312/wjo.v8.i7.524>

Norppa, H. y Falck, G. (2003). What do human micronuclei contain? *Mutagenesis*, 18(3), 221–233. <https://doi.org/10.1093/mutage/18.3.221>

Organismo Internacional de Energía Atómica. (2014). *Dosimetría citogenética: Aplicaciones en materia de preparación y respuesta a las emergencias radiológicas*. Centro de Respuesta a Incidentes y Emergencias del OIEA. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/EPR_Biodosimetry_S_web.pdf

Pajic, J., Jovicic, D. y Milovanovic, A. (2017). Micronuclei as a marker for medical screening of subjects continuously occupationally exposed to low doses of ionizing radiation. *Biomarkers*, 22(5), 439–445. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2016.1217934>

Qian, Q., Cao, X., Shen, F. y Wang, Q. (2016). Effects of ionising radiation on micronucleus formation and chromosomal aberrations in Chinese radiation workers. *Radiation Protection Dosimetry*, 168(2), 197–203. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv290>

Rastkhah, E., Zakeri, F., Ghoranneviss, M., Rajabpour, M., Farshidpour, M., Mianji, F. y Bayat, M. (2016). The cytokinesis-blocked micronucleus assay: dose–response calibration curve, background frequency in the population and dose estimation. *Radiation and Environmental Biophysics*, 55, 41–51. <https://doi.org/10.1007/s00411-015-0624-3>

Ryu, T., Kim, J. y Kim, J. (2016). Chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes after exposure to ionizing radiation. *Genome Integrity*, 7(1), 5. <https://doi.org/10.4103/2041-9414.197172>

Sari-Minodier, I., Orsière, T., Auquier, P., Martin, F. y Botta, A. (2007). Cytogenetic monitoring by use of the micronucleus assay among hospital workers exposed to low doses of ionizing radiation. *Mutation Research*, 629(2), 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.01.009>

Schipler, A. y Iliakis, G. (2013). DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice. *Nucleic Acids Research*, 41(16), 7589–7605. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt556>

Shakeri, M., Zakeri, F., Changizi, V., Rajabpour, M. y Farshidpour, M. (2017). A cytogenetic biomonitoring of industrial radiographers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation by using CBMN assay. *Radiation Protection Dosimetry*, 175(2), 246–251.

<https://doi.org/10.1093/rpd/ncw292>

- Siama, Z., Zosang-zuali, M., Vanlalruati, A., Jagetia, G., Pau, K. y Kumar, N. (2019). Chronic low dose exposure of hospital workers to ionizing radiation leads to increased micronuclei frequency and reduced antioxidants in their peripheral blood lymphocytes. *International Journal of Radiation Biology*, 95(6), 697–709. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1571255>
- Sierra, C. (2011). *Evaluación del efecto genotóxico de la Radiación Ionizante en médicos ortopedistas expuestos laboralmente, en cuatro instituciones de salud en Bogotá, Colombia 2011* [Tesis de maestría]. Universidad de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Soltanpour, T., Zakeri, F., Changizi, V., Rajabpour, M. y Farshidpour, M. (2017). Low levels of ionizing radiation exposure and cytogenetic effects in radiopharmacists. *Medical Communication Biosci. Biotech. Res. Comm*, 10(1), 56–62. <http://dx.doi.org/10.21786/bbrc/10.1/9>
- Sommer, S., Buraczewska, I. y Kruszewski, M. (2020). Micronucleus assay: The state of art, and future directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/ijms21041534>
- Terzic, S., Milovanovic, A., Dotlic, J., Rakic, B. y Terzic, M. (2015). New models for prediction of micronuclei formation in nuclear medicine department workers. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 10(25). <https://doi.org/10.1186/s12995-015-0066-5>
- Thierens, H. y Vral, A. (2009). The micronucleus assay in radiation accidents. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 45(3), 260-4.
- Torres-Bugarín, O., Zavala-Cerna, M. G., Nava, A., Flores-García, A. y Ramos-Ibarra, M. L. (2014). Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Disease Markers*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/956835>
- Vaiserman, A. M. (2010). Radiation hormesis: Historical perspective and implications for low-dose cancer risk assessment. *Dose-Response*, 8(2), 172–191. <https://doi.org/10.2203/dose-response.09-037>.
- Wolff, H., Hennies, S., Herrmann, M., Rave-Fränk, M., Eickelmann, D., Virsik, P., Jung, K., Schirmer, M., Ghadimi, M., Hess, C., Hermann, R. y Christiansen, H. (2011). Comparison of the micronucleus and chromosome aberration techniques for the documentation of cytogenetic damage in radiochemotherapy-treated patients with rectal cancer. *Strahlentherapie Und Onkologie*, 187(1), 52–58. <https://doi.org/10.1007/s00066-010-2163-9>

- Yamada, R., Saimyo, Y., Tanaka, K., Hattori, A., Umeda, Y., Kuroda, N., Tsuboi, J., Hamada, Y. y Takei, Y. (2020). Usefulness of an additional lead shielding device in reducing occupational radiation exposure during interventional endoscopic procedures: An observational study. *Medicine*, 99(34), e21831. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021831>
- Zakeri, F., Farshidpour, M. y Rajabpour, M. (2017). Occupational radiation exposure and genetic polymorphisms in DNA repair genes. *Radioprotection*, 52(4), 214–249. <https://doi.org/10.1051/radiopro/2017025>
- Zakeri, F. y Hirobe, T. (2010). A cytogenetic approach to the effects of low levels of ionizing radiations on occupationally exposed individuals. *European Journal of Radiology*, 73(1), 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2008.10.015>

Población y Salud en Mesoamérica

¿Quiere publicar en la revista?

Ingrese [aquí](#)

O escribanos:

revista.ccp@ucr.ac.cr



Población y Salud en Mesoamérica (PSM) es la revista electrónica que cambió el paradigma en el área de las publicaciones científicas electrónicas de la UCR. Logros tales como haber sido la primera en obtener sello editorial como revista electrónica la posicionan como una de las más visionarias.

Revista PSM es la letra delta mayúscula, el cambio y el futuro.

Indexada en los catálogos más prestigiosos. Para conocer la lista completa de índices, ingrese [aquí](#).



DOAJ

latindex



Dialnet

e-revist@s



Revista Población y Salud en Mesoamérica -

Centro Centroamericano de Población
Universidad de Costa Rica

