



Latinstock

Evaluación genotóxica en estudiantes de Odontología
expuestos a rayos X durante radiografías dentales

Exposición a RADIACIÓN Y DAÑO GENÉTICO

Esta investigación pretende determinar si la exposición crónica a rayos X durante la práctica clínica diagnóstica, que realizan los estudiantes de Odontología como parte de su formación académica, produce daño genético. Para ello se realizaron dos bioensayos: el test de micronúcleos en células de la mucosa bucal, que evalúa efectos clastogénicos como aneugénicos y otras anormalidades del núcleo que pueden ser utilizadas como marcadores de daño celular; y el ensayo de electroforesis de células individuales o del cometa, en muestras de sangre periférica, que determina el daño a la cadena simple o a la doble cadena del ADN.

Se analizaron dos cohortes, una expuesta y otra control, de estudiantes de Odontología, correspondiendo a la primera los estudiantes del último año que realizan placas radiográficas a pacientes durante un periodo de exposición crónica de tres años. La cohorte control se caracterizó por estudiantes de los primeros años de la carrera que no están expuestos a rayos X. Los resultados mostraron un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos ($p < 0.05$) y de células en apoptosis y otras anormalidades del núcleo en los estudiantes expuestos crónicamente a la radiación, pero no hubo diferencias en la medición del daño en el ADN mediante el test del cometa comparados con la población control.

Los resultados permiten concluir que la dosis recibida y el tiempo de exposición a los rayos X tienen un efecto citotóxico en células de la mucosa bucal y producen un daño mínimo al ADN en células de sangre periférica.

Por **D. FRANCO DE DIANA**. Licenciada en Biología. Directora del Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad Católica «Nuestra Señora de la Asunción» (deidamia_franco@uca.edu.py). **J. SEGOVIA**. Licenciado en Biología. Docente investigador *senior* de la Universidad Católica «Nuestra Señora de la Asunción». **D. CASTIGLIONI**. Licenciada en Biología. Docente investigadora *senior* de la Universidad Católica «Nuestra Señora de la Asunción». **C. VEGA**. Doctora en Microbiología. Docente investigadora *senior* de la Universidad Católica «Nuestra Señora de la Asunción». Directora del Centro para el Desarrollo de las Ciencias (CEDIC). **N. LÓPEZ ACOSTA**. Licenciado en Matemática Estadística. Docente técnico de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. **A. GÓMEZ**. Máster en Ciencias Biológicas por el Centro para el Desarrollo de las Ciencias (CEDIC).

El principal efecto de las radiaciones ionizantes se produce sobre la molécula de ADN y está relacionado con las dosis y el tiempo de exposición. Si se considera que cualquier dosis, por pequeña que sea, lleva aparejado un riesgo, debe reducirse a valores tan bajos como sea posible. Sin embargo, es importante tener en cuenta el tiempo de exposición en forma crónica al que se exponen trabajadores y personas en formación profesional, como estudiantes de carrera del área de la Salud, y que la radiosensibilidad puede variar de un individuo a otro dependiendo de la edad, el sexo y el tipo de exposición ^[1].

La exposición a rayos X durante la radiografía panorámica en pacientes adultos y en niños induce efectos genotóxicos en células gingivales, incrementando el

daño cromosómico y la muerte celular. Por consiguiente, estas radiografías panorámicas dentales deberían ser solicitadas únicamente en casos muy necesarios, ya que este procedimiento no puede ser considerado como de bajo o de ningún riesgo ^[2].

Tolbert y colaboradores (1992) sugieren la utilización del test de micronúcleos como una herramienta para evaluar el efecto genotóxico, ya que se origina por roturas de cromosomas o por divisiones mitóticas anormales, así como para detectar otras anomalías nucleares atípicas como picnosis, cariorrexis o cariólisis, que son indicadores de daño celular ^{[4] [5]}.

Otro ensayo útil para la detección de daño en la cadena del ADN es la electroforesis de una sola célula, o ensayo del cometa, que permite evaluar los niveles de daño en la cadena simple y doble del ADN en poblaciones celulares sin necesidad de realizar estudios de proliferación. Se trata de una herramienta potencialmente sensible para evidenciar daño genotóxico inducido por diferentes tóxicos en el sitio de acción de los mismos ^[6].

En Paraguay, tanto los profesionales como los estudiantes de la carrera de Odontología se exponen con frecuencia, durante las prácticas de diagnóstico por imágenes, a recibir radiaciones sin tener ningún tipo de protección, ya que este hábito de bioseguridad de radioprotección no es practicado estrictamente a este nivel, pese a la existencia de normas y legislaciones que regulan este tipo de actividad. Teniendo este hecho en cuenta, hemos procedido al análisis de micronúcleos en células de la mucosa bucal y en muestras de sangre periférica para medir el daño en el ADN mediante el test del cometa, procedentes de estudiantes de la carrera de Odontología que están expuestos de forma crónica a dosis bajas de rayos X.

Materiales y métodos

El diseño de la investigación corresponde a un estudio observacional analítico de corte transversal, de cohortes de expuestos y no expuestos, a quienes se le aplicó una encuesta para evaluar el estado de salud, hábitos de fumar, de consumo de alcohol y de drogas, tiempo de exposición y métodos de radioprotección durante la realización de placas radiográficas.

Población expuesta

Alumnos sin distinción de sexos con edades comprendidas entre 24 y 29 años, que cursaban materias clínicas de la carrera de Odontología y que estuvieron expuestos a radiaciones ionizantes causadas por la toma de radiografías a pacientes de la clínica odontológica, durante por lo menos tres años.

Población no expuesta

Estudiantes de la carrera de Odontología, del ciclo básico, que no hayan estado expuestos a rayos X por la toma de radiografías.

Técnicas de instrumentos de recolección de datos

Análisis genotóxico

Se evaluó el efecto genotóxico mediante dos bioensayos: el test de micronúcleos en células de la mucosa bucal y el ensayo del cometa.

Las muestras de mucosa bucal y de sangre periférica de cada individuo, tanto de la población control como de la ex-



puesta, se tomaron en forma simultánea durante los meses de junio a octubre.

Análisis de micronúcleos en células exfoliadas de mucosa bucal

Se obtuvo una muestra de células de la mucosa bucal mediante un raspado de la cara interna de la mejilla con un *bajalengua*, con el cual se realizó un extendido en la lámina portaobjeto. Las muestras fueron fijadas con metanol / ac. acético (3:1) y se colorearon con la técnica de Feulgen. La observación al microscopio se realizó mediante la utilización de filtros especiales para contrastar el citoplasma. Se contaron 2.000 células por individuo y se determinó la frecuencia de micronúcleos en ambas poblaciones, la control y la expuesta, según Tolbert (1992)^[7] y Fenech (1999)^[8].

Se evaluó si la exposición crónica a rayos X durante la práctica clínica diagnóstica, que realizan los estudiantes de Odontología como parte de su formación académica, produce daño genético



LatinStock

Test del cometa para medir daño en el ADN

La técnica del test del cometa se realizó según Singh *et al.* (1988) y con pequeñas modificaciones^[9] y consideraciones de optimización^[10]. Se obtuvieron 2 µl de sangre periférica del dedo anular de cada uno de los participantes. Las muestras fueron suspendidas en 0,5% de agarosa de bajo punto de fusión (LMP) y pipeteadas en portaobjetos que previamente fueron cubiertos con una capa de agarosa de punto de fusión normal (NMP) al 1% y llevados a 4°C durante 10 minutos; luego se sumergieron en *buffer* de lisis (2,5M NaCl, 100 µM Na₂EDTA, 10 µM Tris-HCl Ph 10,1, Triton-X-100 y 10 % DMSO) durante una hora a 4°C en oscuridad, a los efectos de provocar la lisis y la descompactación del ADN. Posteriormente, los portaobjetos fueron expuestos a *buffer* alcalino (1 mM Na₂EDTA, 300mM NaOH *buffer* Ph >13 durante 20 minutos para degradar el ADN.

Cada portaobjetos fue sometido a electroforesis durante 20 minutos a 25 V y 300 mA, en el mismo *buffer*, y poste-

Para el efecto se desarrollaron dos bioensayos: el test de micronúcleos, en células de la mucosa bucal, y el ensayo de electroforesis de células individuales o del cometa, en muestras de sangre periférica

riormente se lavaron con *buffer* 0,4 Try-HCl (Ph 7, 5) para eliminar el exceso de álcali y remover los detergentes. La fijación de las muestras se realizó con alcohol p.a y las láminas finalmente fueron teñidas con bromuro de etidio (10 µg/ml). Se examinaron las láminas bajo microscopio de fluorescencia con un aumento de 400 x.

Se evaluaron 100 células por placa mediante registro visual y a través del *software* Casp Lab Comet Assay free.

Evaluación por registro visual

Se realizó según los criterios de Speit (1995)^[12] y Collins (2004)^[13], donde las células se clasifican considerando que a mayor descarga de ADN polifragmentado fuera del núcleo, mayor es el daño genotóxico. Para cuantificar el daño al ADN se establece una categoría de daño a las células basadas en el largo del cometa:

- Categoría 0: células sin daño (5 µm).
- Categoría I: células con bajo nivel de daño (5-20 µm).
- Categoría II: células con medio nivel de daño (entre 20 y 40 µm).
- Categoría III: células con alto nivel de daño (entre 40 y 95 µm).
- Categoría IV: células totalmente dañadas (superior a 95 µm).

Una vez establecido el porcentaje de células en cada categoría se calculó el índice de daño (N) por cada muestra de individuo:

$$N = N^{\circ} \text{ Cél Cat I} + 2XN^{\circ} \text{ Cél. Cat II} + 3XN^{\circ} \text{ Cél. Cat III} + 4XN^{\circ} \text{ de Cel. Cat IV}$$

Evaluación por el 'software' Casp Lab Comet Assay IV

Se obtuvieron valores de momento de la cola (*tail moment*), que permiten me-

dir el porcentaje de ADN en la cola del cometa, y momento *olive* (*tail moment olive*), que describe la heterogeneidad de la respuesta dentro de una población celular, ya que calcula las variaciones de la distribución de ADN dentro de la cola, midiéndolas en µm.

Análisis estadístico

Para el análisis exploratorio de los datos de micronúcleos en células de la mucosa bucal para el grupo de control (n=31) y el grupo expuestos (n=30) se utilizó el paquete estadístico SPSS. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante la prueba «t» de Student y se aplicó, además, la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para el contraste de hipótesis.

El análisis de daño en el ADN con el ensayo del cometa se llevó a cabo mediante la prueba de comparación de medias U de Mann-Whitney para dos muestras independientes de los datos de daño en el ADN y valores del momento de la cola (*tail moment*) y momento *olive* (*tail moment olive*).

Resultados

Caracterización demográfica de las poblaciones estudiadas

Población control o no expuesta

Alumnos estudiantes de Odontología, de edades comprendidas entre 18 y 20 años, cursando el primer año de la carrera. El 84% de la población es femenina (25/31) y el 16% (5/31) masculina.

El 43,3% (13/30) de la población presenta antecedentes familiares con algún tipo de cáncer, ya sea de pulmón, pró-

tata, útero y, mayoritariamente, mama. El 40% de la población analizada es consumidora casual de alcohol.

Población expuesta

La población expuesta consiste en 30 estudiantes de Odontología que actualmente cursan el sexto año de la carrera. Sus edades están comprendidas entre 23 y 29 años, el 83% de la población es femenina (25/30) y el 17% (5/30) es masculina. El 56,7% de la población anali-

Tabla 1. Caracterización de la población estudiada.

Características demográficas y clínicas	Población expuesta	No expuesta
Sexo	80% (24/30) femenino 20% (6 /30) masculino	84% (25/31) femenino 16% (5/31) masculino
Edad	23 – 29 años	17 – 20 años
Consumo casual de alcohol	56,7%	40%
Antecedentes familiares de cáncer	26,7%	43,3%
Tiempo de exposición a rayos X por radiografías dentales	3 años	No se expone

Tabla 2. Frecuencia de micronúcleos (MN) y anomalías nucleares en células de población no expuesta (control).

Estudiante número	Edad	Sexo	MN/2000 cel	Anormalidades nucleares					
				BN	Cariolisis	Cariorrexis	Broken eggs	Cromatina condensada	Picnosis
1	18	F	2					1	1
2	19	F	1					0	2
3	19	F	4					1	0
4	18	F	1	2	2	4		1	0
5	19	F	4					2	1
7	18	F	0					0	0
8	17	F	0	2				0	0
9	18	M	0					0	1
10	18	F	2					0	0
11	18	F	1				2	1	0
12	18	F	0					0	0
13	18	F	2	2			6	0	0
14	19	F	3	0	1	2	3	0	0
15	20	M	1					0	1
16	19	F	9			35	15	1	1
17	18	M	2	5			6	0	0
18	18	F	1					0	0
19	19	F	4			3		0	0
20	19	F	0	1	1		6	0	0
21	19	F	2				5	1	1
22	18	F	1				2	0	1
23	19	F	2					1	0
24	19	F	0		12		9	0	1
25	19	M	5				2	0	0
26	18	M	0					2	1
27	19	F	3					0	1
28	20	F	0				1	0	2
29	19	F	2					1	0
30	20	F	0		3		4	0	1
31	18	F	0				3	0	0
		Medias	1,68	0,39	0,61	1,42	2,06	0,37	0,48
		desv. típ.	1,99	1,05	2,216	6,302	3,434	0,6	0,63

*BN = bi nucleada.

Tabla 3. Frecuencia de micronúcleos y anomalías nucleares en células de población expuesta.

Estudiante número	Edad	Sexo	MN/2000 cel	Anormalidades nucleares					
				BN	Cariolisis	Cariorexixis	Broken eggs	Cromatina condensada	Picnosis
1	24	F	6	6	2	1	10	1	1
2	25	F	0	0	8	16	10	1	2
3	27	F	0	6	2	28	5	4	4
4	27	F	6	14	12	20	7	10	8
5	25	F	4	14	10	24	12	1	12
6	24	F	6	10	6	32	7	2	2
7	24	F	6	2	1	16	4	2	1
8	23	F	6	12	6	20	12	1	8
9	24	F	4	10	12	36	24	4	2
10	37	M	12	6	6	35	12	1	2
11	24	F	10	12	12	2	2	1	2
12	24	F	6	4	10	14	28	8	12
13	24	F	0	6	1	1	1	1	2
14	24	F	8	4	8	8	6	5	8
15	24	M	26	4	4	4	8	4	12
16	24	F	6	1	1	6	2	1	0
17	24	F	8	1	1	1	10	1	1
18	27	F	6	0	1	6	4	0	0
19	24	F	4	0	1	2	7	1	1
20	24	F	16	0	1	1	12	0	1
21	24	F	0	0	1	1	1	1	1
22	24	F	10	0	1	2	2	0	0
23	26	F	2	1	1	4	5	1	0
24	29	F	6	4	1	1	4	0	1
25	25	F	4	0	0	1	4	1	2
26	24	F	2	0	2	2	6	0	0
27	24	F	12	10	10	36	12	4	8
28	25	M	8	6	15	20	26	2	10
29	25	F	10	6	10	30	18	1	1
30	26	M	6	10	12	28	22	5	0
		Media	6,67	4,97	5,27	13,27	9,43	2,13	3,47
		desv. típ.	5,287	4,65	4,712	12,736	7,44	2,403	4,066

*BN = bi nucleada. MN = micronúcleos.

zada es consumidora de alcohol de forma moderada.

El 26,7% (8/30) de la población presenta antecedentes familiares con algún tipo de cáncer, ya sea de huesos, próstata, mama y, mayoritariamente, colon. Todos los estudiantes encuestados señalaron que trabajan desde hace al menos tres años en la sala de rayos X; el cien por cien de los encuestados no utiliza ningún tipo de protección contra los rayos X.

En la tabla 1 pueden apreciarse los datos demográficos más destacados de la población estudiada.

Evaluación de efecto genotóxico a través del test de micronúcleos en mucosa bucal

En la tabla 2 se aprecian las frecuencias de micronúcleos determinadas en la población no expuesta y algunas anomalías nucleares. La tabla 3 mues-

tra los valores para la frecuencia de micronúcleos y anomalías nucleares en la población expuesta. Y la tabla 4 compara los promedios de frecuencias de micronúcleos en ambas poblaciones: $1,68 \pm 1,99$ para la población control y $6,67 \pm 5,2$ para la expuesta y anomalías nucleares. Al aplicar la prueba de «t» de Student y la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para el contraste de hipótesis, se obtuvo el valor de $p=0,006$, considerándose como valores sig-

Tabla 4. Comparación de promedios de frecuencias de MN y anomalías nucleares en poblaciones expuestas y no expuestas (control).

	Población no expuesta	Población expuesta
Micronúcleos/2.000 células	1,68	6,67
Binucleadas	0,39	4,97
Cariolisis	0,61	5,27
Cariorrexis	1,42	13,27
Broken eggs	2,06	9,43
Cromatina condensada	0,37	2,13
Picnosis	0,48	3,47

Valor de $P < 0.006$ para frecuencia de MN y picnosis.

nificativos aquellos que se encuentren por debajo de 0,05. Por lo que la diferencia de frecuencia de micronúcleos entre ambas poblaciones es significativa, lo que permite rechazar la hipótesis nula y aceptar la alternativa. Las anomalías nucleares como picnosis, cariorrexis y cromatina condensada también se tomaron como parámetros de evaluación genotóxica y citotóxica.

En las figuras 1 y 2 quedan reflejadas las medias de las frecuencias de micronúcleos en poblaciones no expuestas y expuestas, respectivamente, distribuidas por edad, siendo mayor en la población expuesta.

La figura 3 indica comparativamente el promedio de anomalías nucleares entre la población expuesta y no expuesta, observándose un aumento en las medias de los individuos expuestos, considerando la picnosis, la cariorrexis y la cromatina condensada como figuras características de células en apop-

La población expuesta estuvo formada por estudiantes del último año de la carrera, que realizan placas radiográficas a los pacientes que asisten a las clínicas, durante un periodo de exposición crónica de tres años. El grupo control se caracterizó por estudiantes de los primeros años de la carrera que no están expuestos a rayos.

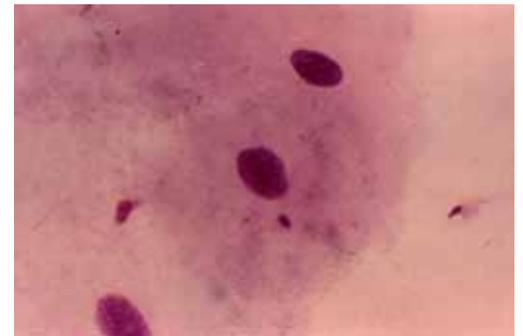


Figura 4. Células de la mucosa bucal con micronúcleo. Tinción Feulgen 1.000 x.



Figura 5. Células de la mucosa bucal sin micronúcleo. Tinción Feulgen 1.000 x.

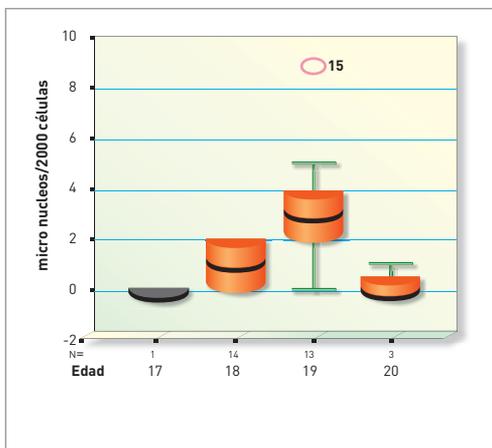


Figura 1. Diagrama de cajas de micronúcleos/2.000 células grupo control (no expuesto) distribuido por edades.

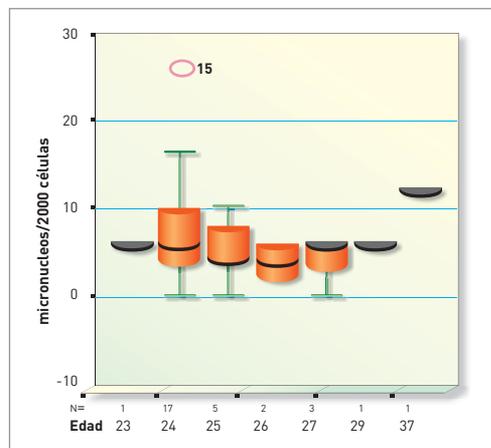


Figura 2. Diagrama de cajas de frecuencia de micronúcleos en células de la población expuesta distribuido por edades.

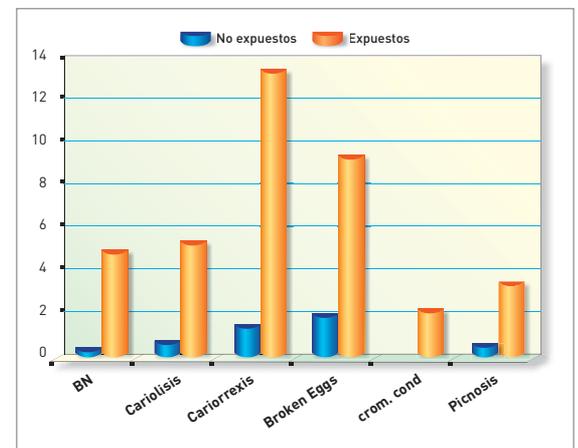


Figura 3. Anomalías nucleares en poblaciones expuestas y no expuestas.

Los resultados mostraron un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos ($p < 0.05$) y de células en apoptosis y otras anomalías del núcleo como cariorrexis, cromatina condensada, *broken eggs* y picnosis, en los estudiantes expuestos crónicamente a la radiación emitida por los equipos de rayos X



Figura 6. Célula de la mucosa bucal binucleada. Tinción Feulgen 1.000 x.

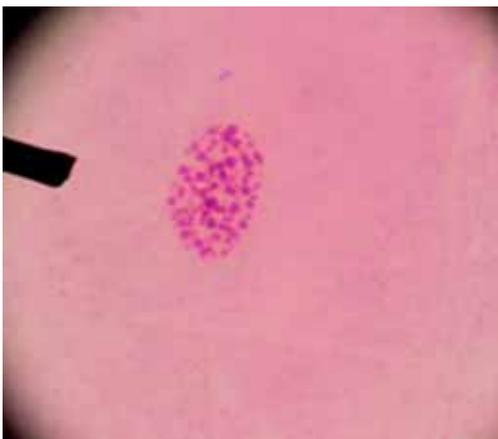


Figura 7. Célula de la mucosa bucal con cariorrexis apoptótica. Tinción Feulgen 1.000 x.

tos, y las binucleadas y *broken eggs* como figuras características de efecto genotóxico. En las figuras 4 y 5 pueden observarse células de la mucosa bucal teñidas con la técnica de Feulgen a un aumento de 1.000 x con micronúcleo y sin micronúcleo, respectivamente. En las figuras 6 y 7 se aprecian anomalías nucleares como binucleadas y células apoptóticas con cariorrexis.

Evaluación del efecto genotóxico por el ensayo del cometa

Mediante registro visual

La tabla 5 muestra valores para las medias de porcentaje de células con diferentes niveles de daño celular, según el criterio de Speit (1995) y Collins (2004). En la tabla se puede apreciar un aumento de los mismos para el nivel I en la población expuesta comparada con la no expuesta. Sin embargo, los valores obtenidos para los niveles II, III y IV no son significativos, según la comparación de

Tabla 5. Niveles de daño celular según el criterio de Speit (1995) y Collins (2004).

	Grupos	N	Media	Desviación típ.
Nivel 0	grupo control	31	74,52	15,558
	grupo expuestos	29	64,38	16,003
Nivel I	grupo control	31	,55*	,888
	grupo expuestos	29	6,41*	10,527
Nivel II	grupo control	31	,03	,180
	grupo expuestos	29	,66	1,542
Nivel III	grupo control	31	,00	,000
	grupo expuestos	29	,31	1,312
Nivel IV	grupo control	31	,00	,000
	grupo expuestos	29	,31	1,339
Daño total	grupo control	31	3,4*	
	grupo expuestos	29	37,8*	

*Prueba de U Mann Whitney $p < 0.05$.

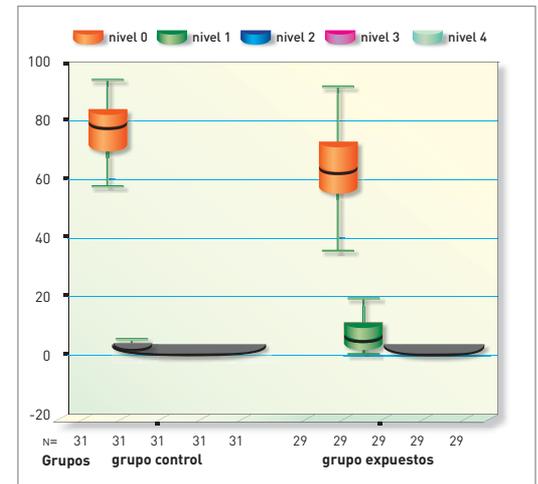


Figura 11. Diagrama de cajas del daño genotóxico por nivel en los grupos control y expuestos.

medias «t» de Student y la prueba no paramétrica de U Mann Whitney para muestras independientes, arrojando un valor de $p = 0.006$ menor a 0.05 para nivel I, por lo que se consideró estadísticamente significativo, y valores superiores a 0,05 en las demás categorías. En la figura 11 se pueden observar los valores para los niveles I, II, III y IV en ambas poblaciones, resultando evidente el aumento significativo de daño de nivel I en la población expuesta. El cálculo para índice de daño ($N = N^{\circ} \text{Cél Cat I} + 2XN^{\circ} \text{Cél. Cat II} + 3XN^{\circ} \text{Cél. Cat III} + 4XN^{\circ} \text{Cél. Cat IV}$) fue de 37,8 para la población expuesta y de 3,4 para la población no expuesta, con una diferencia significativa ($p < 0.05$) según la prueba de U Mann Whitney. Estos valores indican que en la población expuesta el índice de daño celular es bajo, debido al predominio de células con daño nivel I. Las figuras 8, 9 y 10 muestran células sin daño y con niveles de daño I y II, respectivamente.

Con la técnica del cometa es posible valorar la viabilidad celular por el por-



Figura 8. Célula sin daño (nivel 0).

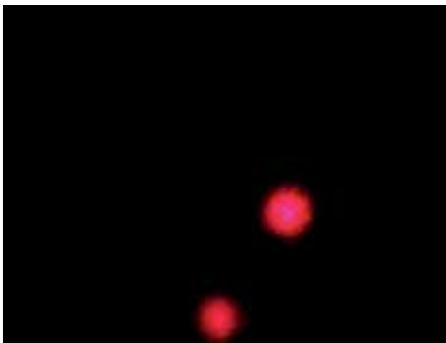


Figura 9. Célula con escaso daño (nivel I).

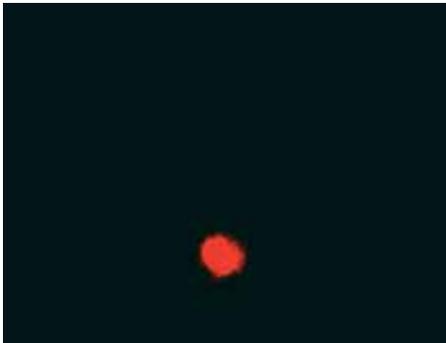


Figura 10. Célula con medio nivel de daño (nivel II).



Figura 12. Células apoptóticas. Microscopía de fluorescencia 400 x.

Tabla 6. Valores de medias de apoptosis en grupos expuesto y no expuestos.

	Grupos	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Apoptosis	Grupo control	31	22,68	13,029	2,340
	Grupo expuestos	29	47,93	12,473	2,316

*Prueba de t $p < 0,05$

Tabla 7. Valores medios de *tail moment* y *tail moment olive* del cometa.

	Expuestos	Control
<i>Tail moment</i>	1,34± 2,12	0,73±0,15
<i>Tail moment olive</i>	0,93±0,49	0,51±0,24

$p > 0.05$ para prueba t.

centaje de viabilidad celular, determinando la frecuencia de células en apoptosis (figura 12). La tabla 6 indica los valores medios obtenidos de células en apoptosis de poblaciones no expuestas (22,6%) y expuestas (47,9%) mediante la determinación visual. La figura 13 refleja los valores de células en apoptosis para ambas poblaciones.

Evaluación por el software Casp Lab Comet Assay

En la tabla 7 se observan los valores de las medias determinados para *tail moment* y *tail moment olive* del ensayo del cometa de las poblaciones expuesta y control, notando un leve aumento de los valores para la población expuesta, pero que según la prueba «t» de Student no son estadísticamente significativas. Por

No se encontraron diferencias significativas en la medición del daño en el ADN, medido por el ensayo del cometa, comparados con la población control, lo cual indica un efecto citotóxico más que genotóxico

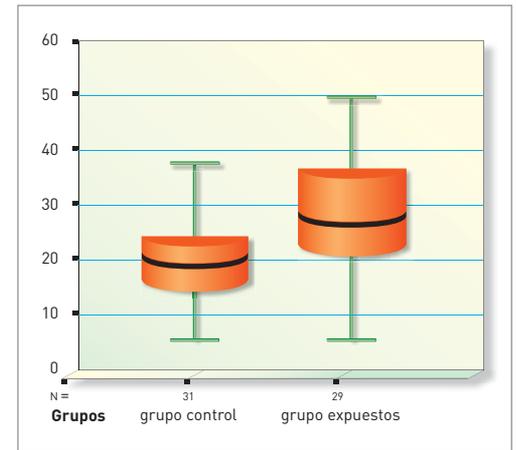


Figura 13. Valores para células apoptóticas en ambas poblaciones.

otro lado, las figuras 14 y 15 muestran en el diagrama de cajas los valores promedio para ambas poblaciones para el *tail moment* y el *tail moment olive*, respectivamente.

Conclusiones

Los resultados del estudio ponen de manifiesto que la dosis y el tiempo de exposición a rayos X a que están sometidos los estudiantes que realizan placas dentales producen un daño de bajo nivel (nivel I) a la molécula de ADN en células de sangre periférica, y actúan desencadenando efectos citotóxicos. Esta observación coincide con la opinión de otros autores, que reportaron aumento de citotoxicidad en mucosa bucal en pacientes adultos y niños tras la realización de radiografías panorámicas^[14, 15, 16], mas no un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos. Los valores significati-

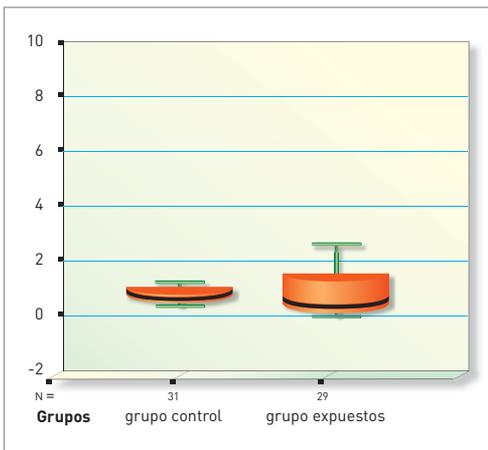


Figura 14. Diagrama de cajas para valores promedios de momento de la cola del cometa para poblaciones expuestas y no expuestas.

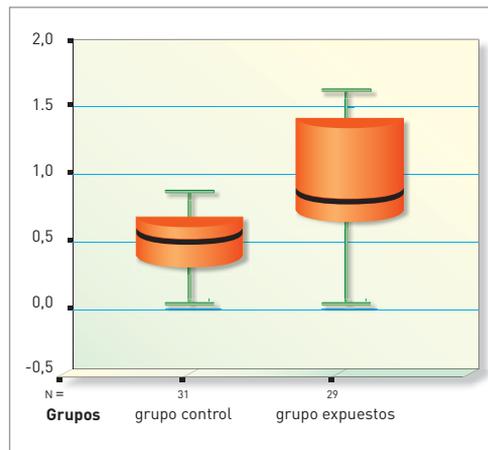


Figura 15. Diagrama de cajas para valores promedios de momento de la cola del cometa para poblaciones expuestas y no expuestas.

Los resultados indican la necesidad de realizar un biomonitoreo en otras poblaciones expuestas a dosis subtóxicas y en forma crónica a rayos X

vos de las frecuencias de micronúcleos encontrados podrían deberse al tiempo de exposición (más de tres años) y a la dosis recibida, ya que la frecuencia de micronúcleos aumenta con la dosis y el tiempo de exposición a rayos X (Ribeiro, 2008), y el origen de los mismos podría

deberse a fallos en el mecanismo de división celular y no a roturas de cromosomas [16].

De acuerdo a estas observaciones, se recomienda la exposición solo cuando es muy necesario y adoptar las precauciones de radioprotección pertinentes. ♦

PARA SABER MÁS

- [1] Mi-Young A y Tae- Hwan K. Frecuencias de micronúcleos en periferia de linfocitos en población coreana después de exposición crónica a radiación. *Veterinary Science* 2002; 3:213-218
- [2] Cerqueira EMM, y Meireles JRC. Efectos genotóxicos de rayos X en células mucosales durante radiografía panorámica dental. *Dentomaxillofacial Radiology* 2008; 37, 398-403.
- [3] Antonio E. L. Genotoxicidade e citotoxicidade dos raios X no epitelio da mucosa oral de crianças submetidas a radiografias panorâmicas (Tesis de maestría). Curitiba, Universidad Federal do Paraná, 2010.
- [4] Serto F, Finottus S, Glaconelli L, Mazzotti D, Tamanin R. El ensayo de micronúcleos en células de la mucosa bucal humana mutagenesis 1987; 2: 11-17.
- [5] Bonassi S, Fenech M, Lando C, Yip-ping L, Ceppi M, Wushou *et al.* Human MicroNucleus Project: International database comparison for results with the Cytokinesis-Block micronucleous assay in human lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Mutat Res.* 1999; 428: 271-283.
- [6] Mudry M, y Carballo, A. Genética toxicológica. De los Cuatro Vientos. Bs AS 2006.
- [7] Tolbert P, Shy C, Allen J. Micronúcleos y otras anomalías nucleares en frotis bucales: métodos de desarrollo. *Mutat Res.* 1992; 271: 69-77.
- [8] Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The Human MicroNucleus Project: an international collaborative study on the use of micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res.* 1999; 428: 271-283.
- [9] Singh N, McCoy M, Tice R, Schneider E. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *EExp Cell Res* 1988; 175: 184 -191
- [10] Singh NN, Stephens R, Schneider E. Modificacións de electroforesis de microgel alcalino para la detección sensible de daño de ADN. *Inst Radiat Biol* 1994; 66:23-28
- [11] Zúñiga Venegas L. Optimización metodológica del ensayo del cometa y su aplicación en biomonitorización humana (tesis doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, 2009.
- [12] Speit G, Hartman A. The comet assay (single-cell gel test). A sensitive genotoxicity test for detection of DNA damage and repair. *lotwa N.J.* 1995; 113: 20- 212
- [13] Colins A. The Comet assay for DNA damage and repair molecular. *Biotechnology* 2004; 26:249 -261
- [14] Ribeiro L, Salvadori D, Marques E. *Mutagenesis ambiental.* Ulbra, Sao Paulo 2003.
- [15] Cerqueira EMM, Gomes-Filho IS, Trindade S, Lopes MA, Passos JS, Machado-Santelli GM. Daño genético en células exfoliadas de la mucosa oral de individuos expuestos a rayos X durante radiografías panorámicas. *Mutat Res* 2004; 562: 111-117
- [16] Ribeiro D y Angeli F. Biomonitorización genética de la mucosa oral de adultos expuestos a rayos X. *Radiat Med* 2008;26: 325 - 30.

A MODO DE GLOSARIO

Broken eggs. Atipia nuclear caracterizada por la presencia de una protuberancia de tamaño variable en el núcleo de la célula. Está relacionada con un daño en el ADN.

Picnosis. Atipia nuclear, en donde se observa al núcleo de tamaño muy reducido, generalmente en respuesta a una lesión celular. Es característica de células en apoptosis o necrosis.

Cariorexisis. Desintegración del núcleo y de la membrana nuclear. La cromatina aparece condensada en pequeños grupos, en células apoptóticas.

Cariolisis. Aspecto del núcleo sin colorear, debido a la disolución de la cromatina. Ocurre como resultado de la necrosis.

Cromatina condensada. La cromatina aparece muy condensada dentro de la membrana nuclear, en respuesta a altos niveles de lesión celular.

AGRADECIMIENTOS

A FUNDACIÓN MAPFRE, a través del programa Ayudas a la Investigación (2010).

Al Centro para el Desarrollo de la Ciencia (CEDIC), por permitir el uso de sus laboratorios

Al Dr. Enrique Zamorano Ponce, de la Universidad del Bío Bío de Chillán (Chile), por su constante asistencia y asesoramiento y por el entrenamiento recibido.

Al Dr. José Corvalán Amigo, Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica, por su apoyo para la ejecución del proyecto y por facilitar las instalaciones de los laboratorios.

A los directivos de la Facultad de Odontología Pierre Fauchard, por autorizar la participación de los estudiantes en la investigación.

A los estudiantes de Odontología que participaron en la investigación.

A los estudiantes de Medicina de la Universidad Católica «Nuestra Señora de la Asunción» Juan Segovia, Luis Gatti y Daniela Solís, por su participación en el desarrollo del bioensayo del test de micronúcleos.