

## PESQUISA DE DAÑO GENOTOXICO EN PERSONAL MEDICO Y PARAMEDICO DEL HOSPITAL OBRERO N° 1. GESTION 2000 -2002

GENOTOXIC DAMAGE IN THE STAFF OF THE HOSPITAL OBRERO  
N°1, PERIODO 2000 - 2002

*Dra. Noemi Tirado Bustillos \**  
*Dra. Maria del Pilar Navia Bueno \*\**  
*Tec. Marina Cuti \*\*\**

Instituto de Genética

### RESUMEN-

#### Pregunta de investigación:

¿Se habrá producido daño genotóxico en el material genético del personal médico y paramédico de los servicios de radiología y oncología del hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz, por la constante exposición a las radiaciones ionizantes?

#### Objetivos

Evaluar la magnitud de daño genotóxico y citotóxico que producen las radiaciones ionizantes en personas expuestas continuamente por razones laborales.

#### Diseño

Corte transversal con casos y controles

#### Lugar

Hospital Obrero N° 1, servicios de Radiología, Oncología, Informática y Farmacia.

#### Participantes

**Grupo A (Casos):** Personas expuestas a radiaciones ionizantes del Hospital Obrero N°1. **Grupo B (Controles):** Personas no expuestas a radiaciones del mismo hospital. Los casos y controles fueron seleccionados por muestreo aleatorio simple y según criterios de inclusión y exclusión, ambos grupos respondieron a un cuestionario personal. Se aplicó también un cuestionario validado para el hábito de fumar.

#### Métodos

Se extrajo una muestra de sangre por punción venosa. - Para el estudio de daño cromosómico se utilizó la prueba de micronúcleos (células binucleadas bloqueadas utilizando cytochalasina B) en linfocitos de sangre periférica.

#### Resultados:

De acuerdo a la identificación de micronúcleos por 1000 células binucleadas por placa, se identifica variable de respuesta como si existe o no daño genotóxico en aumento de micronúcleos; variables de exposición son el área de trabajo y tiempo de trabajo, variables control edad, sexo, tipo de exposición.

Al realizar la prueba de T de student se observó que existen diferencias significativas entre el promedio de micronúcleos en el grupo expuesto con el grupo no expuesto a rayos X y cobalto ( $p < 0.001$ ), además que existe asociación significativa ( $\chi^2$ ) entre el hábito de fumar y las alteraciones de micronúcleos de pacientes expuestos y no expuestos, valor  $p < 0.007$

**PALABRAS CLAVES:** Radiaciones, Micronúcleos y personal de salud.

### SUMMARY-

#### RESEARCH QUESTION

Will there be provoked genotoxicity in genetic material of paramedical and medical personnel in the radiology and oncology services of the Hospital Obrero N° 1 of the city of La Paz, due to the constant exposition to ionizing radiation?

#### Objective

To evaluate the magnitude of genotoxic and cytotoxic damage produced by the ionizing radiation in constantly exposed individuals due to laboral reasons.

#### Design

Cross sectional with cases and controls

#### Place

Hospital Obrero N°1, services of radiology, oncology, computer science and drugstore.

#### Participants

**Group A, Persons** exposed to ionizing radiation. **Group B, not exposed** to radiation at the same hospital. The cases and controls were selected by random simple sampling and according to criteria of incorporation and exclusion, both groups answered to a personal questionnaire. A questionnaire was also applied to validate the smoking habit.

#### Methods:

A sample of venous blood was obtained for the study of chromosomal damage. The test of micronuclei (binucleated cells blocked using cytochalasine B) was used in peripheral blood linfocites.

#### Results:

According to the identification of micronuclei for 1000 binucleated cells per plate, it was identified as a variable of response if it existed or not, genotoxic damage in increase of micronuclei; variable of exposition, was the area of work and time of work. Significant findings establish that there exists an association between the habit of smoking and the alterations of micronuclei and of patients exposed and not exposed to X-ray and cobalt, giving a value  $p < 0.007$ . Significant differences exist between the exposed and unexposed groups, that is to the ionizing beams as opposed to the presence of genotoxic damage, giving a value  $p < 0.001$

#### Conclusions

There exists an association between exposition to radiations ionizants and the increase in the number of micronuclei as indicator of genotóxic damage for chromosomal bankruptcies.

**KEY WORDS:** Radiations, micronuclei and health workers

\* Docente - Investigadora, Instituto de Genética

\*\* Docente - Investigadora, Epidemiología clínica - IINSAD

\*\*\* Auxiliar de Investigación - Instituto de Genética

## INTRODUCCION

En las sociedades actuales, los seres humanos están expuestos a una gran cantidad de agentes físicos y químicos que potencialmente pueden interactuar con su ADN celular y producir mutaciones; es decir, cambios estructurales o numéricos en esta molécula. Si estas alteraciones se producen en células germinales existe la posibilidad de que la descendencia de los individuos afectados manifieste anomalías hereditarias. Por otro lado, si las células afectadas no son las germinales sino cualquier otra célula somática es probable que las personas directamente expuestas desarrollen algún tipo de cáncer<sup>(1)</sup>.

Varios autores han descrito un incremento de anomalías cromosómicas estructurales en poblaciones expuestas a radiaciones ionizantes. Las técnicas para detectar el daño genético en las células de los trabajadores es importante debido a que: 1) Si los agentes genotóxicos o condicionantes están presentes, medidas preventivas pueden ser introducidas antes de que los efectos deletéreos a la salud sean aparentes en el trabajador o su descendencia. 2) En el caso de exposición accidental, se puede obtener una estimación de la dosis y 3) En caso de problemas de salud genética (reproductiva o cáncer), alguna estimación puede obtenerse de la probabilidad de que el efecto viene de la exposición.

De los estudios epidemiológicos provienen las evidencias más directas para detectar genes ambientales con potencial mutagénico y/o carcinogénico. Sin embargo, estos estudios son costosos y retrospectivos. Por esta razón es que los estudios in vivo e in vitro están siendo utilizados por que son capaces de predecir el potencial mutagénico o carcinogénico de estos agentes químicos o físicos a los cuales los seres humanos pueden estar expuestos accidentalmente, ocupacionalmente o terapéuticamente<sup>(2)</sup>. Aunque la población en general está expuesta a numerosos tipos de compuestos, los profesionales y personal en general que trabajan en servicios de radiología constituyen un grupo de mayor riesgo para realizar estudios de biomonitorización.

Existen numerosos trabajos de investigación a nivel mundial sobre los efectos negativos que son

producidos por la exposición ocupacional a radiaciones ionizantes.

En un diagnóstico radiológico, la información es obtenida con un mínimo de exposición del paciente, siendo el personal que trabaja en esta área, por sufrir una exposición constante, un grupo de riesgo. La técnica de micronúcleos en linfocitos es una técnica que además de verificar quiebras cromosómicas, verifica la frecuencia de pérdidas de cromosomas enteros. La técnica del cometa o "Single Cell Gel Electroforesis", mide quiebras de la doble cadena, quiebras de cadena simple y sitios alcali-lábiles del DNA, por tanto estas dos técnicas se complementan la validación del daño genético. En el Hospital Getulio Vargas Rio Grande del Sur (Brasil) se realizó una toma de muestra de 10 profesionales entre médicos y técnicos de rayos X, además de 10 controles del mismo hospital que trabajan en cargos burocráticos, en cuanto a la frecuencia de micronúcleos y la Técnica del Cometa las diferencia entre el grupo expuesto y el control fue estadísticamente significativa para las dos técnicas ( $P=0.005$  y  $P=0.0078$ ), respectivamente.<sup>(12)</sup>

En la investigación causada por accidentes de radiación, es importante estimar la dosis absorbida por las personas expuestas para poder planificar su terapia. Inclusive en situaciones donde la medición física de la dosis es factible, una estimación independiente por métodos biológicos puede ser de mucha utilidad corrientemente el indicador biológico más desarrollado para exposición a radiaciones ionizantes es el estudio de aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica de personas expuestas. La irradiación in vivo o in vitro de linfocitos de sangre produce similar rendimiento de daño cromosómico por rad, así que los niveles observados de aberraciones en personas expuestas puede ser relacionado con las dosis por comparación con la curva de dosis respuesta producida in vitro. Una gran cantidad de información sobre la fundamentación de la inducción de aberraciones producidas por las radiaciones, así como también de las producidas por químicos mutágenos (particularmente en linfocitos humanos) ha sido acumulada en los últimos 50 años.<sup>3</sup>

**MATERIAL Y METODOS:****Pregunta de investigación**

¿Qué magnitud de daño genotóxico se habrá producido en el material genético del personal médico y paramédico de los servicios de radiología y oncología del hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz, por la constante exposición a las radiaciones ionizantes?

**Objetivo general**

- Evaluar la magnitud de daño genotóxico y citotóxico que producen las radiaciones ionizantes en personas expuestas continuamente por razones laborales.

**Objetivos específicos**

- Determinar la magnitud del efecto acumulativo de las radiaciones ionizantes sobre el material genético de las personas que trabajan en el servicio de radiología considerado su antigüedad laboral.

**Diseño de investigación**

Es un estudio de Corte transversal con casos y controles.

**Tamaño de la muestra**

Se realizó un estudio de corte transversal con casos y controles, el cálculo del tamaño de muestra se realizó con el programa estadístico EPI INFO versión 6 con un nivel de confianza del 95%, con un poder del 80%, el tamaño de muestra determinado fue de 30 personas obtenidas por muestreo aleatorio simple, de cada una de las cuales se evaluó 1000 células.

**Lugar**

Las muestras fueron obtenidas del personal médico, paramédico y administrativo del hospital Obrero N° 1 de los servicios de Radiología, Oncología, Informática y farmacia, Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de Genética Toxicológica del Instituto de Genética.

**Intervención**

Se eligieron los sujetos de estudio según sean casos o controles:

**Grupo A (Casos):** Personas expuestas a radiaciones ionizantes.

**Grupo B ( Controles):** Personas no expuestas a radiaciones.

Tanto los casos y controles fueron seleccionados según los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

\* Criterios de inclusión de los casos de estudio:

-Tiempo de trabajo no menor a 2 años  
-Trabajadores expuestos de los servicios de radiología y oncología

- Edad comprendida entre 25 - 65 años

\* Criterios de exclusión de los casos de estudio.

- Enfermedad oncológica

\* Criterios de elegibilidad de los controles:

- Personas sanas

- Trabajadores del hospital no expuestos

- Edad comprendida entre 25 - 65 años

La muestra de sangre se obtuvo por punción venosa de 30 profesionales entre médicos y técnicos de rayos X enfermeras X y 30 controles del mismo hospital, que trabajan en cargos administrativos, escogidos por muestreo aleatorio simple, tomando en cuenta otros factores no ocupacionales como sexo, edad, hábitos de fumar y consumo de bebidas alcohólicas.

**Identificación de micronúcleos**

La técnica del micronúcleo ha sido propuesta como un método para medir el daño cromosómico en linfocitos estimulados con un mitógeno. Los micronúcleos requieren una división celular para ser expresados y consecuentemente, la técnica convencional de micronúcleos es imprecisa puesto que las células han sufrido una sola división, y los micronúcleos en ellos, no pueden ser identificados separadamente de la población total de linfocitos. Uno de los métodos para superar este problema es el de la citokinesis bloqueada utilizando citocalasina B. Los micronúcleos se cuentan en células bloqueadas en citokinesis. Estos son fácilmente reconocibles puesto que conservan su apariencia binucleadas y un gran número puede ser acumulado por la adición de 3 µg / ml de citocalasina B a las 44 hrs y contados a las 72 hrs. La citocalasina B por si sola no produce micronúcleos<sup>5,6</sup>.

**Mediciones**

\* Confección de Ficha con los datos clínicos generales y datos de exposición a radiaciones.

\* Aplicación de cuestionario validado para el hábito de fumar.

El porcentaje de mujeres en todo el grupo es de 68,33% y el porcentaje de varones es de 31,67%.

\* En la prueba de micronúcleos se contó en microscopio a 1000 X el número de micronúcleos en 1000 células binucleadas por placa, calculando los Mn dividiendo el número total de Mn entre el número total de células BN. El análisis de los datos se realizó a un intervalo de confianza de 95%.

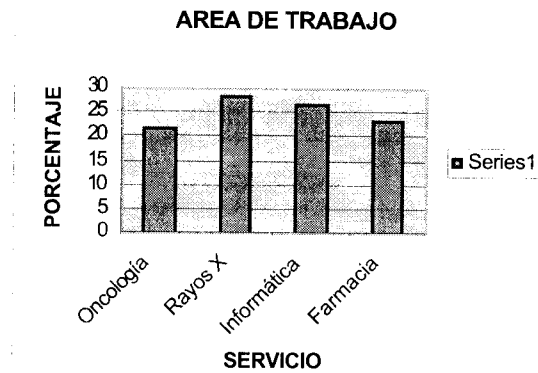
El mayor porcentaje en ocupación es del personal administrativo (56,67%) que están contemplados los que trabajan en informática, farmacia y secretarías. Las personas que están en las distintas áreas de trabajo como ser Oncología, Rayos X, Informática y Farmacia se distribuyen equitativamente, oscilan entre 22 a 28%. Gráfico No 2

**RESULTADOS:**

Variables dependientes: Número de micronúcleos en 1000 células Binucleadas (Mn/BN), aberraciones cromosómicas en 1000 metafases.

**Gráfico 2: Area de trabajo**

Variables independientes: Tiempo de exposición a los rayos X y expresado en años, edad, sexo, tipo de trabajo de acuerdo a la ocupación.

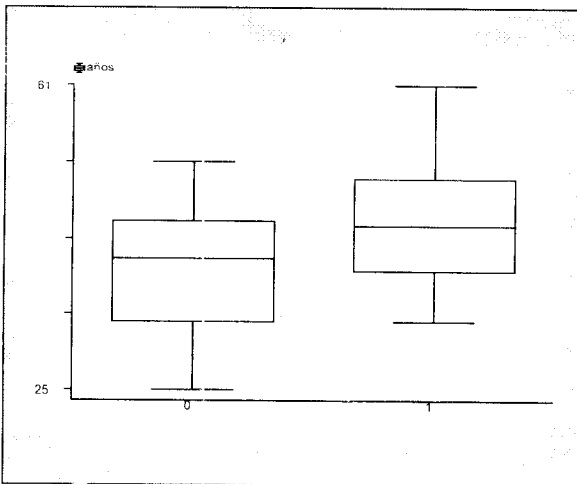


Para el análisis de los datos se ingresó al paquete estadístico Stata versión 6 donde se realizó el análisis exploratorio de los mismos y se procedió a realizar el estudio de acuerdo al tipo de variables. Se realizó estadística descriptiva y se procedió al estudio analítico e inferencial.

Los resultados obtenidos en relación al promedio de edad en el grupo caso es de 45 años con una desviación estándar de 6,9 valor mínimo de 33 años y máximo de 61 años. Ver gráfico 1.

Fuente: Elaboración propia

**Gráfico N° 1.- DISTRIBUCION DE EDAD**



La edad en el grupo control tiene como promedio 39,3 años una desviación estándar de 7,70 el valor mínimo 25 años y máximo 52 años.

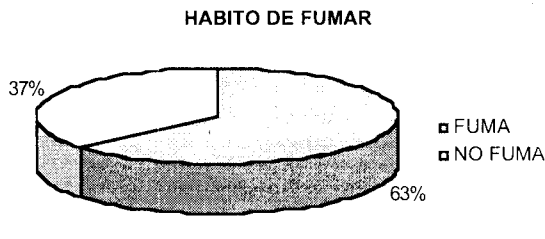
Los años de trabajo en el grupo control tiene como promedio 9,85 años desviación estándar de 9,74 con un valor mínimo de 1 y un máximo de 36 años. En el grupo de casos el promedio de años de trabajo es de 11,4 con una desviación estándar de 7, valor mínimo de 1 y un máximo de 25 años.

El porcentaje de personas con antecedentes familiares con cáncer en el grupo control es de 66,67% para los controles y de 33,33% para los casos.

El porcentaje de personas que fuman en el grupo control es del 36,67% y de 63,33 en los casos. Ver gráficos.3

Edad en casos y controles: 0 = Control; 1 = Caso

**Gráfico N°3 :** distribución del hábito de fumar

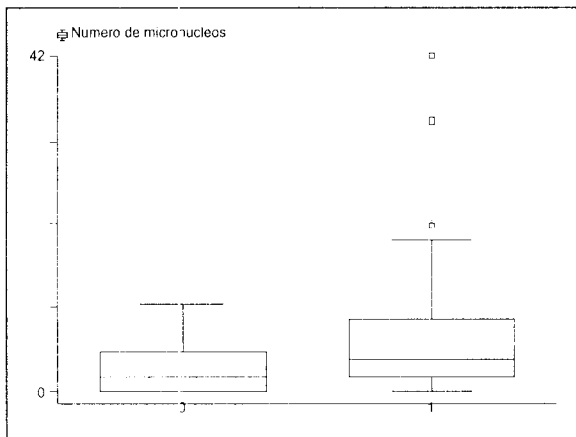


Fuente: Elaboración propia.

**Estadística analítica.**

En la prueba de CHI<sup>2</sup> para observar asociación entre el hábito de fumar y las alteraciones de micronúcleos de pacientes expuestos y no expuestos a rayos X y Cobalto, existe asociación estadísticamente significativa con valor  $p = 0.007$  al efectuar la prueba de OR, se observó que no existe riesgo con esta variable ( $p > 0.2$ )

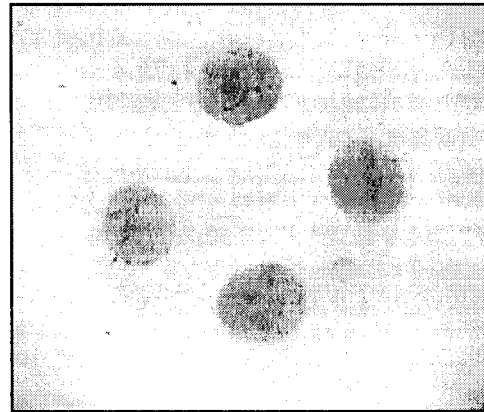
**Gráfico 4.-** Número de micronúcleos en linfocitos humanos



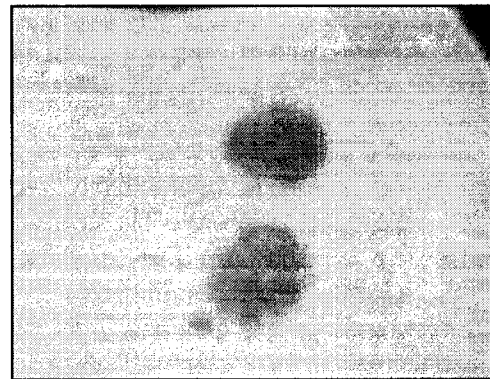
0 = Control; 1 = Caso

Al realizar la prueba de T de Student para observar si existen o no diferencias significativas en el promedio de micronúcleos en el grupo expuesto a rayos X y Co. con el grupo no expuesto, se evidencia una diferencia estadísticamente significativa, valor  $p < 0.01$ . Con estos datos aceptamos la hipótesis en la cual se plantea que existen diferencias en la cantidad de micronúcleos en el grupo expuesto a rayos X y Cobalto con relación al grupo no expuesto. Ver figuras 1,2,3

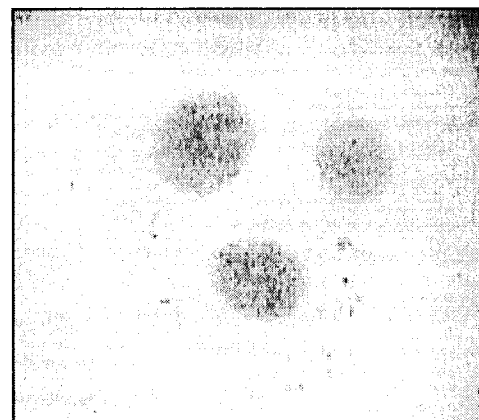
**FIGURA 1.** Micronúcleo en linfocito tetranucleado



**FIGURA 2.** Micronúcleo en linfocito binucleado



**FIGURA 3.** Micronúcleo en linfocito trinucleado



**DISCUSIÓN**

Actualmente existen numerosos organismos internacionales dedicados a la prospección de agentes genotóxicos y estimación de su consiguiente riesgo poblacional, especialmente la "International Agency for Research on Cancer (IARC)" de la Organización Mundial de la Salud, la "International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens (ICPEMC)" y la "U.S. Environmental Protection Agency (EPA)". La base de datos de estos organismos, y la literatura mundial sobre el tema es extraordinariamente densa.

La adecuación de la problemática genotóxica de nuestro país al estado actual de la Ciencia a nivel mundial debe ser una dimensión urgente en las políticas científicas bolivianas, a la vez que se puedan comenzar a realizar aportes desde nuestro país, que se centren en aquellos problemas que más nos atañan.

En vista de que en nuestro país el personal que esta expuesto ocupacionalmente a las radiaciones ionizantes no cuenta con una protección adecuada, además por sufrir una exposición crónica constante (grupo de riesgo), se ve la necesidad de realizar estudios para determinar la magnitud del daño al material genético producido por las radiaciones ionizantes. Para tal efecto se utilizó la técnica de evaluación de efectos genotóxicos in vitro: micronúcleos, técnica que además de verificar quiebras cromosómicas evalúa la pérdida de cromosomas enteros.

Varias publicaciones internacionales han reportado datos sobre el incremento de la frecuencia de micronúcleos en personas expuestas ocupacionalmente a radiaciones ionizantes por la exposición crónica constante, siendo un grupo de riesgo <sup>(3,12)</sup>.

Como se pudo demostrar, existen diferencias significativas en la cantidad de micronúcleos en los expuestos frente a los no expuestos ( $p < 0.01$ ), por lo tanto rechazamos la hipótesis nula.

En este estudio además se observó asociación entre el hábito de fumar y las alteraciones de micronúcleos de pacientes expuestos y no expuestos a rayos X y Co. Estadísticamente significativa con un valor de  $p = 0.007$ , efectuando la prueba de OR se observó que no existe riesgo con esta variable (fumar) 0.2.

**CONCLUSIONES**

Existe asociación entre exposición a radiaciones ionizantes y el incremento en el número de micronúcleos como indicador de daño genotóxico por quiebras cromosómicas.

**REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. Salazar Ana María, Herrera Montalvo Luis Alonso, Daño genético inducido por agentes físicos y químicos, Rev. Fac. ;Med. UNAM Vol. 35 N° 2 ,1992.
2. Fairbairn Daryl, Olive Peggy, O' Neill Kim, The comet assay: a comprehensive review, Mutation Research 1994;339 (1995) 37 -59.
3. Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment. Technical Reports series N° 260,1986. International Atomic Energy Agency Vienna.
4. Kasamatsu Toshio, Kohda Kohfuku, Kawazoe Yutaka, Comparison of chemically induced DNA breakage in cellular and subcellular systems using the comet assay, Mutation Research 1996; 369: 1 -6.
5. Tice Raymond, Vasquez Marie, Protocol for the application of the pH> 13 alkaline single cell gel (SCG) assay to the detection of DNA damage in mammalian cells, Research Triangle Park,1998.
6. Ramalho adriana, Sunjevaric I., Natarajan A. T., Use of the frecuencies of micronuclei as quantitative indicators of X - ray- induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes: Comparison of two methods, Mutation Research1988; 207: 1141 -146.

- 
7. Fenech Michael, Morley Alexander A., Measurement of micronuclei in lymphocytes, *Mutation Research* 1985; 247: 29 - 36.
8. Ramalho A., Sunjevaric I., Natarajan A.T., Use of the frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X ray - induces chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes: Comparison of two methods, *Mutation Research*, 207 (1988) 141-146.
9. Savage John, The production of chromosome structural changes by radiations: an update of Lea (1946), Chapter VI, *The British Journal of Radiology* 1989, Volume 62, number 738.
10. Gantenbergg, H.W., Wuttke K., Streffer C., Müller W.U., *Radiation Research* 1991; 128: 276 -281.
11. Kóteles G.J, Bojtor I., Szirmai S., Bérces J., Otos M., Micronucleus frequency in cultured lymphocytes of an urban population, *Mutation Resesarch* 1993; 319: 267 - 271.
12. Maluf Sharbel W., Erdtman Bernardo, Monitorizaçao de profissionais expostos ao raio-X a través da técnica do cometa e freqüência de micronúcleos, *Genetics and molecular Biology* 1998; vol. 21 - N°3- supplement.
13. Kaori M. C, Syllós C. I., Cytogenetic assesment of the dentists exposed to low radiation levels, *Genetic and molecular Biology* 1998; vol 21 -N°3 - pg. 102, supplement.
14. Villalobos-Pietrini R. , Gomez A. Sandra y Amador Muñoz O., Monitoreo Genético de las aeropartículas, *Gentics and molecular Biology* 1998; vol 21 - N°3- supplement.
15. Morimoto K, Takeshita T., Take-uchi T., Maruyama S., Ezoe S., Chromosome alterations in peripheral lymphocytes as indices of lifestyle and genotoxicity. 1993.
16. Singh N., Mc. Coy M., Tice R., Schnaider. L, A Simple Technique for Quantitation of low levels of DNA Damage in Individual Cells, *Experimental Cell Research* 175 (1988) 184 - 191.
17. Singh N., Danner D., Tice R., Brant L., Schneider E., DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes, *Mutation Research*, 237 (1990) 123-130.
18. Singh N., Danner D., Tice R., Pearson J., Brant L., Morrell Ch., Schneider E., Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age, *Mutation Research* 1991; 256: 1-6.
19. Savage John, Mechanism of Chromosome Aberrations, *Mutation and Environmental* 1990; Patr B.: 385- 396,.
13. Kaori M. C, Syllós C. I., Cytogenetic assesment of the dentists exposed to low radiation levels, *Genetic and molecular Biology* 1998; vol 21 -N°3 - pg. 102, supplement.
14. Villalobos-Pietrini R. , Gomez A. Sandra y Amador Muñoz O., Monitoreo Genético de las.
-