



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR

**“Asociación entre Intercambio de Cromátides Hermanas y la
expresión de miR-34a-5p en Personal Ocupacionalmente
Expuesto a Radiaciones Ionizantes”**

TESIS

Que presenta

BIOM. LILIANA ITZEL PATRÓN BARO

Para obtener el Grado de

Maestra en Ciencias en Biomedicina Molecular

DIRECTORAS DE TESIS

DRA. VERÓNICA JUDITH PICOS CÁRDENAS

DRA. ELIAKYM ARÁMBULA MERAZ

COMITÉ TUTORAL

DRA. NOEMÍ GARCÍA MAGALLANES

DR. TOMÁS ADRIÁN CARRILLO CÁZARES

DR. FRED LUQUE ORTEGA

Culiacán, Sinaloa, México, a febrero del 2025.



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



La presente investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Genética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS) Campus II “Dr. Carlos Alfredo Zambada Senties” ubicado en Culiacán, Sinaloa, México, en colaboración con el Laboratorio de Biomedicina y Biología Molecular de la Universidad Politécnica de Sinaloa (UPSIN). Se contó con la dirección de la Dra. Verónica Judith Picos Cárdenas y la Dra. Eliakym Arámbula Meraz, así como con la asesoría de la Dra. Noemí García Magallanes, del Dr. Tomás Adrián Carrillo Cazares y el Dr. Fred Luque Ortega.

Durante los estudios de la Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular se recibió beca por parte del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) con el número de CVU 1237570, de igual manera, la Coordinación General para el Fomento a la Investigación Científica e Innovación del Estado de Sinaloa (CONFIE) otorgó apoyo económico para realizar la estancia en la UPSIN bajo el folio de solicitud SIN-FJT-2024-CO1-00497.

AGRADECIMIENTOS

Extiendo un agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca económica asignada durante mi formación. De igual manera, agradecer al programa de Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular (MCBM) de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa que me permitió cursar mis estudios de posgrado. Igualmente agradezco la oportunidad de realizar una estancia académica y el apoyo brindado por equipo del Laboratorio de Biomedicina y Biología Molecular de la UPSIN y a la Coordinación General para el Fomento a la Investigación Científica e Innovación del Estado de Sinaloa (CONFIE) por el apoyo económico para la estancia y asistencia a congreso.

Mi eterno agradecimiento a mi Madre, **Liliana Baro**, quien ha sido un pilar inquebrantable y fundamental en mi formación personal y profesional; a mi hermano **Humberto Patrón**, por hacerme reír; a mi abuela, **Tita Reyna[†]** y a mi Padre, **Humberto Patrón[†]**, espero hacerlos orgullosos desde donde estén. A mi **Familia** por siempre mostrar interés y palabras de aliento.

A mi estimada mentora y directora de tesis, **Dra. Verónica Judith Picos Cárdenas**, quien me impulsó a seguir mis estudios permitiéndome trabajar en su laboratorio, asimismo siempre me extendió palabras de aliento y por sortear juntas todos los obstáculos que se nos presentaron. De igual modo agradezco la guía brindada por mi comité de tesis, la **Dra. Eliakym Arámbula**, la **Dra. Noemí García**, el **Dr. Fred Luque** y el **Dr. Tomás Carrillo**.

A **Manuel García**, quien fue mi mano derecha durante toda la fase experimental, así como a **Paulina** y **Cristian**. A mis compañeros de laboratorio: **Nayeli**, **Luis**, **Abraham**,

Alejandro, Alejandra, Johanna y Eduardo A mis amigos y compañeros de generación: **Andrea Acosta, Cinthia Ayón, Javier Borbolla, Marco Aguilar y Adrián Ávila**, por hacer la experiencia divertida.

A **Lízbeth Olivas**, que me apoyó en todo momento. Quiero agradecer profundamente a **María García y Andrés Acosta**, quienes me ofrecieron un hogar durante mis estudios.

A las integrantes de la coordinación de la MCBM, **Laura Uzeta**, por siempre atender nuestras inquietudes con una sonrisa; a la **Dra. Alma Guadrón**, quien me alentó a terminar mi tesis; y a nuestra querida **Dra. Carla Angulo[†]**, su legado es invaluable y una inspiración, tanto usted como su frase “todo es curva de aprendizaje” siempre está en mis pensamientos.

A **Klein y Kaffee**, mis pulguitas que pasaron junto a mí las noches de desvelo. A **Rogelio Quintero**, el principal donador de sangre para la estandarización, quien ha estado en todo momento, alentándome cuando la situación lo ameritó y celebrando los logros, por caminar a mi lado en este proceso e impulsarme a mejorar.

DEDICATORIA

*A mi **Madre**, quien siempre me ha apoyado, aconsejado e impulsado.*

Gracias por estar siempre a mi lado, mis logros son gracias a ti.

*A mi **Tita Reyna**, cuya memoria me alienta a seguir estudiando.*

*A la **Dra. Carla Angulo**, por su amor a la ciencia y enseñanza, cuya memoria me inspira a ser mejor científica y persona. Su esencia y bondad siempre vivirá en nuestros corazones.*

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	vii
I. RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II. INTRODUCCIÓN	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA	6
III.1. RADIACIÓN IONIZANTE (RI)	6
III.1.1. Tipos de RI	6
III.1.2. Tipos de exposición a RI	8
III.1.2.1. Vía interna	8
III.1.2.2. Vía externa.....	8
III.1.2.3. Categorías de exposición a Radiación Ionizante	8
III.1.2.4. Personal ocupacionalmente expuesto:	9
III.1.2.5. Radiosensibilidad:.....	9
III.2. APLICACIONES DE LA RI EN MEDICINA	10
III.2.1. Radiodiagnóstico	10
III.2.2. Medicina nuclear	11
III.2.3. Radioterapia	11
III.3. EFECTOS DE LA RI EN ORGANISMOS BIOLÓGICOS	12
III.3.1. Efectos estocásticos	12
III.3.1.1. Efectos estocásticos en la salud por exposición a dosis crónicas	13
III.3.2. Efectos deterministas	13
III.3.3. Tipos de acción de la RI	14
III.3.3.1. Acción directa.....	15

III.3.3.2. Acción indirecta.....	15
III.4. REGULACIÓN DE RADIACIÓN EN MÉXICO.....	17
III.4.1. NOM-012-STPS-2012	17
III.4.2. NOM-026-NUCL-2011	17
III.4.3. Biodosimetría	20
III.4.3.1. Dosímetro	20
III.5. EFECTOS DE LA RI EN LA SALUD DE POERI.....	20
III.6. INTERCAMBIO DE CROMÁTIDES HERMANAS (ICH).....	23
III.6.1. Ciclo celular	23
III.6.1.1 Regulación del ciclo celular	26
III.6.1.2 Reparación de material genético en el ciclo celular	26
III. 6.1.2.1 El mecanismo molecular de la <i>HR</i>	28
III.6.2. Técnica citogenética Intercambio de Cromátides Hermanas (ICH)	33
III.7. MiRNAs.....	35
III.7.1. Estructura de MiRNAs.....	36
III.7.2. Biogénesis de miRNAs.....	38
III.7.3 MiRNAs extracelulares	41
III.7.4 MiRNAs y radiación ionizante.....	41
III.7.5. MiR-34a-5p	44
III.7.5.1 MiR-34a-5p y RI.....	45
III.8. ANTECEDENTES	46
III.8.1. Antecedentes internacionales	46
III.8.2. Antecedentes nacionales	47
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	49
V. JUSTIFICACIÓN.....	51

VI.	HIPÓTESIS	52
VII.	OBJETIVOS	53
	VII.1. Objetivo general	53
	VII.2. Objetivos específicos	53
VIII.	MATERIALES Y MÉTODOS	54
	VIII.1. Consideraciones éticas	54
	VIII.2. Tipo de estudio	54
	VIII.3. Población de estudio	54
	VIII.4. Criterios de selección	55
	VIII.4.1. Criterios de inclusión	55
	VIII.4.2. Criterios de exclusión	55
	VIII.5. Diseño experimental	56
	VIII.5.1. Recolección de muestras	56
	VIII.5.1.1. Muestra sanguínea	56
	VIII.5.2. Análisis citogenético	57
	VIII.5.2.1. Intercambio de Cromátidas Hermanas (ICH)	57
	VIII.5.3. Análisis molecular	57
	VIII.5.3.1. Extracción de microRNAs en suero.....	57
	VIII.5.3.2. Cuantificación de miR-34a	57
	VIII.5.6. Análisis estadístico	62
IX.	RESULTADOS	63
	IX.1 Población de estudio	63
	IX.2 Historial laboral del grupo POERI	66
	IX.3 Características de la población	68
	IX.3.1 Características bioquímicas de la población	68

IX.3.1.1	Análisis de asociación de variables bioquímicas del POERI y años de exposición a RI	72
IX.3.2.1	Análisis de asociación de características hematológicas del POERI	76
IX.4	Análisis citogenético de daño al DNA	76
IX.4.1	Estandarización de la técnica Intercambio de Cromátides Hermanas	76
IX.4.2	Medias de Intercambio de Cromátides Hermanas en ambos grupos	80
IX.4.3	Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas entre los grupos de estudio	
	83	
IX.4.4	Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas de ambos grupos divididos por sexo	85
IX.4.5	Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas entre los grupos de estudio divididos por sexo	87
IX.4.6	Análisis de relación de consumo de alcohol y tabaco con la cantidad de Intercambio de Cromátides Hermanas	89
IX.4.7	Análisis de asociación de Intercambio de Cromátides Hermanas con el tiempo de exposición a RI, variables bioquímicas y hematológicas	89
IX.5.1	Análisis de expresión de miR-34-5p en ambos grupos de estudio	91
IX.5.2	Análisis de asociación de la expresión de miR-34a-5p con parámetros clínicos, tiempo de exposición a RI, edad y cantidad de ICH.	93
X.	DISCUSIÓN	95
XI.	CONCLUSIONES.....	116
XII.	PERSPECTIVAS.....	117
XIII.	BIBLIOGRAFÍA	118
XIV.	SIGLAS Y ABREVIACIONES.....	138
XV.	ANEXOS	143
XV.1.	Documentos complementarios	143
XV.1.1.	ANEXO 1. Formato de consentimiento informado	143
XV.1.2.	ANEXO 2. Formato de historia clínico y laboral.....	145

XV.1.3. ANEXO 3. Química sanguínea de 6 elementos de participantes Femeninos. ...	147
XV.1.4. ANEXO 4. Química sanguínea de 6 elementos de participantes Masculinos. .	148
XV.1.5. ANEXO 5. Química sanguínea de 6 elementos de participantes Femeninos. ...	149
XV.1.6. ANEXO 6. Análisis de asociación entre los niveles de tiempo de exposición a RI y parámetros hematológicos en el POERI.....	150
XV.1.7. ANEXO 7. Análisis de asociación entre la edad del POERI y parámetros hematológicos.	151
XV.1.8. ANEXO 8. Técnica de Intercambio de Cromátides Hermanas.....	152
XV.1.9. ANEXO 9. ICH por metafase de cada participante POERI.....	157
XV.1.10. ANEXO 10. ICH por metafase de cada participante CTRL	158
XV.1.11. ANEXO 11. Relación consumo de tabaco y alcohol con la cantidad de ICH .	159

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de Radiación ionizante	7
Figura 2. Tipos de acción que puede ejercer la radiación ionizante en el DNA.	16
Figura 3. Ciclo celular de células de mamífero	25
Figura 4. Mecanismo molecular de reparación mediante Recombinación Homóloga	32
Figura 5. Conteo de Intercambio de Cromátides Hermanas.....	34
Figura 6. Estructura de un MiRNA	37
Figura 7. Biosíntesis y transporte extracelular de miRNAs	40
Figura 8. Vías de reparación del DNA y algunos ejemplos de miRNAs involucrados en su regulación.	43
Figura 9. Años de exposición a RI por parte del POERI.....	67
Figura 10. Metafase con tinción diferencial.	77
Figura 11. Ejemplos de metafases de POERI vista al microscopio.....	78
Figura 12. Ejemplos de metafases de CTRL vista al microscopio.	79
Figura 13. Cantidad de ICH por participante POERI.....	81
Figura 14. Cantidad de ICH por participante CTRL.....	82
Figura 15. Análisis de ICH entre POERI Y CTRL.....	84
Figura 16. Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas comparando Masculinos vs Femeninos de ambos grupos.	86
Figura 17. Comparación de ICH divididos por sexo.	88
Figura 18. Análisis de expresión de miR-34a-5p en ambos grupos de estudio.	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Exámenes hematológicos realizados al POERI.....	19
Tabla 2. Condiciones de RT-PCR.....	59
Tabla 3. Condiciones qPCR.....	61
Tabla 4. Características de la población.	65
Tabla 5. Química sanguínea de 6 elementos de ambos grupos de estudio.....	69
Tabla 6. Química sanguínea de 6 elementos de ambos grupos de estudio divididos por sexo.	71
Tabla 7. Análisis de asociación entre los niveles de tiempo de exposición a RI y parámetros bioquímicos en el POERI.	73
Tabla 8. Análisis de asociación entre la edad del POERI y parámetros bioquímicos.	73
Tabla 9. Características Hematológicas de ambos grupos de estudio.	75
Tabla 10. Análisis de asociación de Intercambio de Cromátides Hermanas con el tiempo de exposición a RI, variables bioquímicas y hematológicas.....	90
Tabla 11. Asociación de expresión de miR-34a-5p con variables bioquímicas, variables hematológicas, años de exposición a RI, edad y cantidad de ICH.	94

I. RESUMEN

Introducción: La Radiación ionizante (RI) es ampliamente utilizada en el campo médico, ofreciendo ventajas en técnicas imagenológicas y opciones de tratamiento, sin embargo, existe evidencia sobre el daño al material genético del Personal Ocupacionalmente Expuesto a RI, denominado en esta investigación como POERI por su acrónimo, conllevando a la activación de mecanismos de reparación del DNA como el intercambio de cromátides hermanas (ICH) y la modificación del patrón de expresión de miR-34a-5p, el cual regula la progresión del ciclo celular y la formación de ICH. **Objetivo:** Determinar asociación entre ICH y la expresión de miR-34a-5p en el POERI. **Materiales y Métodos:** La población de estudio estuvo conformada por POERI y un grupo control. Se realizó caracterización bioquímica y hematológica, se analizaron alteraciones citogenéticas mediante el ICH y se cuantificó la expresión de miR-34a-5p en suero sanguíneo mediante qPCR. **Resultado:** Se analizaron 24 individuos por grupo. Se observó alteración de la cantidad de ICH en el POERI comparado con el grupo control ($p=0.0001$), presentándose mayor reparación genética en el grupo expuesto a RI, al igual que se presenta diferencia de daño genético de acuerdo con el sexo de POERI, presentando mayor ICH los femeninos POERI ($p=0.04$). Los masculinos POERI muestran más ICH comparado con los masculinos controles ($p=0.0001$), de igual manera los femeninos POERI reportan mayor ICH en relación con los femeninos controles ($p=0.0019$). Se reporta relación entre la cantidad de ICH y los valores de basófilos ($r=0.424$, $p=0.04$). La expresión de miR-34a-5p no fue significativa entre grupos ($p=0.678$), sin embargo, se observó asociación entre el miRNA y los monocitos ($r=0.570$, $p=0.013$). No se observó asociación entre la cantidad de ICH y la expresión de miR-34a-5p ($r=0.136$, $p=0.576$). Se identificó significancia estadística respecto a la relación del tiempo de exposición a RI y los parámetros bioquímicos de urea ($r=0.435$, $p=0.03$), nitrógeno

ureico ($r=0.432$, $p=0.03$), ácido úrico ($r=0.486$, $p=0.01$) y colesterol ($r=0.543$, $p=0.007$).

Conclusión: La exposición a RI aumenta la cantidad de ICH en el POERI sinaloense. La RI altera el DNA en distinta magnitud acorde al sexo, siendo más afectados los femeninos POERI, sin embargo, los masculinos presentan mayor reparación de DNA. La expresión de miR-34a-5p no se asocia con la cantidad de ICH en el POERI.

(Palabras clave: *Radiación Ionizante, miR-34a-5p, Intercambio de cromátides hermanas*).

ABSTRACT

Background: Ionizing radiation (IR) is widely used in the medical field, offering advantages in imaging techniques and treatment options; however, there is evidence of damage to the genetic material of Personnel Occupationally Exposed to IR, referred to in this research as POERI by its acronym, leading to the activation of DNA repair mechanisms such as Sister Chromatid Exchange (SCE) and the modification of the expression pattern of miR-34a-5p, which regulates cell cycle progression and ICH formation. **Objective:** Determine the association between ICH and miR-34a-5p expression in POERI. **Materials and Methods:** The study population consisted of POERI and a control group. Biochemical and hematological characterization was performed, cytogenetic alterations were analyzed by ICH, and miR-34a-5p expression in blood serum was quantified by qPCR. **Result:** 24 individuals per group were analyzed. An alteration in the amount of SCE was observed in the POERI compared to the control group ($p=0.0001$), presenting greater genetic repair in the group exposed to IR, as well as a difference in genetic damage according to the sex of POERI, with POERIfemales presenting greater ICH ($p=0.04$). POERImales show more ICH compared to control males ($p=0.0001$); likewise, POERIfemales report greater ICH about control females ($p=0.0019$). A relationship is noted between the amount of ICH and basophil values ($r=0.424$, $p=0.04$). The expression of miR-34a-5p was not significant between groups ($p=0.678$). No association was observed between the amount of ICH and the expression of miR-34a-5p ($r=0.136$, $p=0.576$), however, an association was observed between the miRNA and monocytes ($r=0.570$, $p=0.013$). No association was observed between the amount of ICH and the expression of miR-34a-5p ($r=0.136$, $p=0.576$). Statistical significance was identified regarding the relationship between exposure time to IR and the biochemical parameters of urea ($r=0.435$, $p=0.03$), urea nitrogen ($r=0.432$, $p=0.03$), uric acid

($r=0.486$, $p=0.01$), and cholesterol ($r=0.543$, $p=0.007$). **Conclusion:** Exposure to IR increases the amount of ICH in POERI from Sinaloa. IR alters DNA in different magnitudes according to sex, with female POERI being more affected; however, males present greater DNA repair. The expression of miR-34a-5p is not associated with the amount of ICH in POERI.

(Keywords: Ionizing Radiation, miR-34a-5p, Sister chromatid exchange)

II. INTRODUCCIÓN

La radiación ionizante (RI) es un tipo de energía capaz de atravesar diversos materiales incluido el cuerpo humano; esto ha permitido ser utilizado en el campo de la imagenología médica, así como tratamiento de algunos tipos de cáncer (1, 2, 3, 4, 5). El personal especializado que trabaja con estas técnicas puede ser nombrado como Personal Ocupacionalmente Expuesto a Radiación Ionizante (POERI) y cuenta con un protocolo de seguimiento médico estructurado por instituciones nacionales e internacionales en el que se evalúan parámetros bioquímicos y hematológicos, así como revisión de aparatos y sistemas orgánicos (6, 7).

La RI es considerada como un agente genotóxico, que provoca inestabilidad genómica, comprometiendo la estructura cromosómica y en consecuencia daño multiorgánico (8, 9). Las alteraciones cromosómicas pueden presentarse como rupturas de una o ambas hebras del DNA aumentando el número de Intercambios de Cromátides Hermanas (ICH) que puede ser considerado como biomarcador citogenético previo a la presencia de manifestaciones clínicas como cáncer o disminución de producción de células sanguíneas en el POERI (10, 11, 12). Asimismo, en los últimos años se ha estudiado a los microRNAs (miRNAs) como potenciales biomarcadores, los cuales son pequeñas moléculas de *RNA* no codificante de entre 22 a 25 nucleótidos de longitud que están involucrados en la regulación postranscripcional (13). Aunado a esto, miR-34a-5p es descrito como un posible candidato para orientar en el estado fisiológico o patológico en los POERI (13, 14, 15, 16). Debido a lo descrito anteriormente representa una gran importancia estudiar biomarcadores citogenéticos y moleculares para detección de daño al DNA de manera oportuna en POERI y en su defecto, implementarlo como estrategia de protocolo médico de seguimiento (17, 18).

III. REVISIÓN DE LITERATURA

III.1. RADIACIÓN IONIZANTE (RI)

La radiación ionizante (RI) es una fuente de energía fuerte capaz de ionizar átomos, si bien, los átomos presenta una carga neta igual a 0 de manera natural, existen distintos eventos que puede provocar la pérdida o ganancia de electrones convirtiendo su carga en positiva o negativa según sea el caso (19), la ionización se refiere a que esta energía es capaz de excitar los electrones de los orbitales de los átomos mediante la alteración de las uniones químicas entre estos provocando su remoción dando como resultado una carga positiva o ionizada, a lo que también se le conoce como efecto fotoeléctrico (19, 20, 21), dichas radiaciones pueden ser producidas de fuentes naturales como el uranio, alimentos y rayos cósmicos, o bien, mediante la intervención humana como un reactor (19, 20).

La ionización puede afectar a tejidos vivos, por lo que se han estudiado sus efectos en la salud humana, llegando a establecer una relación entre la exposición a este tipo de radiación y la aparición de múltiples patologías, por lo que se categoriza dentro de agentes genotóxicos (1, 3, 4, 20)

III.1.1. Tipos de RI

Existen 5 tipos de radiación ionizante que puede inducir la ionización, estas son las partículas α , partículas β , los rayos X, los rayos γ y neutrones (2). Cada uno de los tipos de radiación tienen la capacidad de atravesar diversos materiales de acuerdo con la energía que emiten y la distancia que esta recorre (2) (Figura 1).

TIPOS DE RADIACIÓN

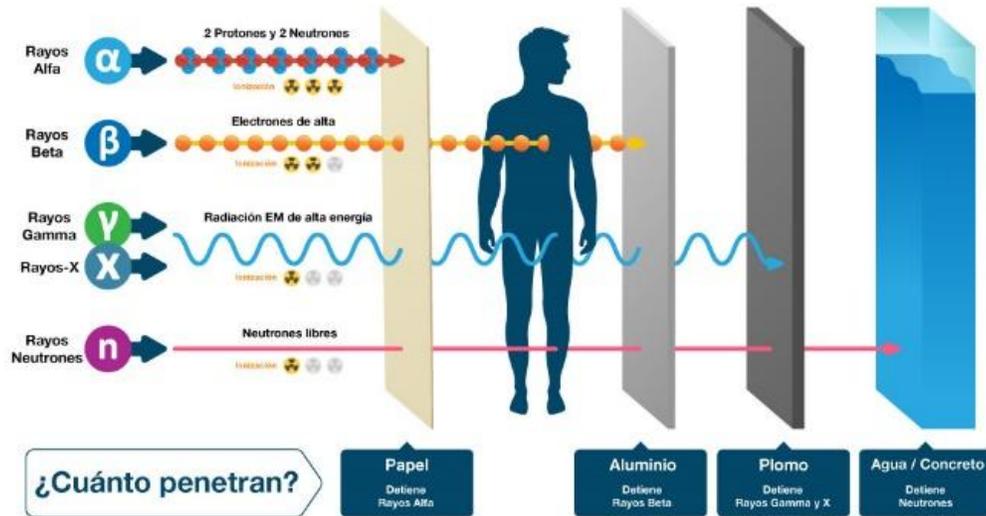


Figura 1. Tipos de Radiación ionizante

Cada tipo de RI puede atravesar distintos materiales. Las partículas o rayos α es posible detener su curso con una simple hoja de papel, mientras que las partículas o rayos β además de atravesar el papel también pueden pasar a través de un organismo como el humano pero es detenido por una lámina de aluminio, ambas partículas son propuestas como terapia contra el cáncer, en cuanto a los rayos X y rayos γ atraviesan con facilidad el cuerpo humano y permite obtener imágenes del estado anatómico e incluso molecular de este, requiriendo de una lámina de plomo para interrumpir su trayectoria, por último los neutrones liberan altas cantidades de radiación y debido a que no cuentan con masa pueden penetrar fácilmente muchos materiales, siendo detenidos por agua o concreto. Tomado de Novusmed (2023) (22).

III.1.2. Tipos de exposición a RI

De acuerdo con las vías por las que se puede presentar la exposición a radiación ionizante es que se clasifican en dos tipos: interna y externa (23).

III.1.2.1. Vía interna

Se produce cuando un radioisótopo entra en el organismo ya sea ingerido, inhalado o a través de una herida hasta en torrente sanguíneo, pudiendo presentarse también por medio de una inyección como lo sería un método de contraste (23, 24). Es posible que la exposición ceda mediante la eliminación del material radioactivo del cuerpo a través del excremento o ya sea con el uso de fármacos (23).

III.1.2.2. Vía externa

La vía de exposición externa se refiere a que el agente radiactivo que se encuentra suspendido en el aire en forma de polvo, aerosol o líquido se posa sobre las superficies, ya sea ropa o directamente sobre la piel, para eliminar la radioactividad la mayoría de las ocasiones con realizar un lavado es suficiente (23).

III.1.2.3. Categorías de exposición a Radiación Ionizante

Desde el inicio de los tiempos la exposición radiación ionizante ha sido parte del día a día del hombre, sin embargo, actualmente se cuentan con mayores fuentes de RI como los dispositivos utilizados en telecomunicaciones o rocas naturales que rodean a algunas poblaciones, por lo que es prácticamente imposible estar exento de recibir dosis de RI, sin embargo, es posible categorizar su exposición de acuerdo con la situación en la que suceden (23).

La primera es la exposición planificada, aplicable a un grupo heterogéneo de sectores, como industrial, mineral o médico, donde se ha diseñado un plan de acción con un fin concreto, incluyendo desde su extracción o creación dependiendo si es de origen natural o artificial, pasando por el posterior tratamiento e incluso su descarte (23, 25).

La segunda categoría es la exposición existente, donde se tiene identificada la fuente de RI y es necesario tomar una decisión sobre esta, sin llegar a ser una emergencia (23, 25).

La exposición en situaciones de emergencia es la tercera categoría, que, como su nombre lo indica, se alude a las eventualidades fuera de lo común que involucran accidentes nucleares o radiactivos que precisan de un actuar inmediato (23, 25).

III.1.2.4. Personal ocupacionalmente expuesto:

De acuerdo con la NOM-229-SSA1-2002, define al Personal Ocupacionalmente Expuesto (POE) como que es aquel trabajador que en ejercicio y con motivo de su ocupación está expuesto continuamente a la radiación ionizante o a la incorporación de material radiactivo. No incluye a trabajadores que en algún punto puedan llegar a estar expuesto a RI de manera extraordinaria, al igual que define que por ley los POE deben de ser mayores de 18 años, se le llamará POERI a Personal ocupacionalmente expuesto a radiaciones ionizantes (7, 26).

III.1.2.5. Radiosensibilidad:

Es la capacidad o susceptibilidad presentada por una célula a mostrar alteraciones biológicas a consecuencia de exposición a radiación ionizante, la radiosensibilidad cambia de acuerdo al tipo celular del que se esté hablando, entre menos diferenciada esté la célula presenta una mayor radiosensibilidad (27).

III.2. APLICACIONES DE LA RI EN MEDICINA

En el campo de la medicina se pueden dividir tres áreas de uso de RI (5):

- Radiodiagnóstico,
- Medicina Nuclear y
- Radioterapia, las cuales se describen a continuación

III.2.1. Radiodiagnóstico

El diagnóstico mediante el uso de radiación ha permitido obtener imágenes anatómicas sin la necesidad de ser totalmente invasivas como lo sería una cirugía, los rayos X son una forma de radiación electromagnética con la capacidad de atravesar objetos, como el cuerpo humano, recabando en manera de fotografía distintas estructuras y tejidos, representando hasta el momento la metodología con mejor relación costo/beneficio para observar de manera relativamente rápida el estado del paciente (28, 29). Por otro lado, la fluoroscopia es una técnica que utiliza rayos X para producir una radiografía en tiempo real, se utiliza durante procedimientos quirúrgicos complicados donde se requiere una visualización precisa en vivo debido a lo cual es posible recurrir a métodos de contraste que logren una mejor imagen, sin embargo, los pacientes sometidos a este tipo de método pueden recibir altas dosis de radiación (28, 29, 30). La tomografía computada (CT, del inglés *Computed Tomography*) es una técnica de imagenología que utiliza la combinación de rayos X y tecnología computarizada para recrear en dos dimensiones órganos y tejidos con sumo detalle mediante cortes seccionales, permitiendo una visualización minuciosa (28, 29, 31).

III.2.2. Medicina nuclear

Actualmente la medicina nuclear ha abierto una brecha en la medicina personalizada al facilitar técnicas que permiten una atención individualizada en medida de lo posible, como lo es el uso de la radiación que no ha sido limitado a exclusivamente observar estructuras como órganos y tejidos, sino ya se ha incluido analizar la funcionalidad bioquímica a nivel molecular del organismo gracias a utilizar la radiación de algunos elementos que funcionan como marcaje específico de moléculas de interés, como lo es la tomografía por emisión de positrones (*PET*, del inglés *Positron Emisión Tomography*) que permite la obtención de imágenes de la biodistribución de radiofármacos que posibilita la selección de un tratamiento con mayor probabilidades de éxito en un paciente en específico, reduciendo costos, tiempo y posibles efectos adversos (24).

La tomografía por emisión de fotón único (*SPECT*, del inglés *Single Photon Emission Computed Tomography*), también parte de la medicina nuclear, ofrece información metabólica, funcional y anatómica del organismo que utiliza radioisótopos, también conocidos como radiofármacos como tinción de las moléculas específicas de interés ya que por distintas propiedades presentan afinidad por ciertos tejidos o moléculas, los radioisótopos utilizados son Talio-201, Tecnecio-99, Yodo-123 Xenón-133 y Xenon-127, todos estos emiten radiación γ que es captada por una gamma cámara rotatoria que muestra una amplia gama de imágenes de distintos cortes a analizar (32).

III.2.3. Radioterapia

La radioterapia ha sido una opción terapéutica para el tratamiento de distintos tipos de cáncer, llegando a la estimación de que aproximadamente el 50% de los pacientes con dicho

diagnostico recibirán radioterapia como tratamiento, que, si bien ataca a las células neoplásicas reduciendo el tumor, también daña tejido sano circunvecino a éste, por lo que se presentan efectos adversos (33). Se ha descrito el uso de la radioterapia *FLASH* que consiste en irradiar a los pacientes con dosis más altas de las estandarizadas para disminuir la citotoxicidad en las células sanas, reportando que se observa el efecto *FLASH* favoreciendo el ataque al tumor pero disminuyendo el daño a las células vecinas, por lo que el campo de la radioterapia aún representa enigmas en el campo de la investigación (33).

III.3. EFECTOS DE LA RI EN ORGANISMOS BIOLÓGICOS

La RI representa grandes avances tecnológicos médicos, sin embargo, es posible que cause efectos secundarios o patologías como el cáncer debido a la exposición de la persona a RI, por lo que se determinó una rama de la biología para estudiar estos efectos: la radiobiología, que analiza la exposición, así como la relación entre la magnitud del efecto y los parámetros de irradiación (9).

Los efectos de la RI se dividen en somáticos, que son presentados exclusivamente por la persona que estuvo expuesta a la radiación como la aparición de tumores o en hereditarios, donde los efectos de la exposición se reflejan en los descendientes de la persona irradiada; ambos efectos están dentro de una clasificación mayor dividida en estocásticos y determinísticos (o no estocásticos) (9, 34)

III.3.1. Efectos estocásticos

De acuerdo con RAE el adjetivo “estocástico” significa perteneciente o relativo al azar (35). Los efectos estocásticos en cuanto a la exposición a RI son aquellos que dependen de la dosis de exposición, ya que a mayor dosis recibida existe una mayor probabilidad de que

aparezcan transformaciones a nivel celular, sin embargo la gravedad de los daños no se relaciona con la dosis debido a que el daño de este tipo en un individuo se considera como presente o ausente, sin existir una dosis umbral (34, 36). Estos efectos pueden no presentar sintomatología de manera inmediata pues el tipo de daño es gradual donde la célula no muere directamente, sino que sufre una transformación en el material genético, es decir, el ácido desoxirribonucleico (*DNA*, del inglés *Deoxyribonucleic Acid*) (2, 37).

III.3.1.1. Efectos estocásticos en la salud por exposición a dosis crónicas

De acuerdo con los sistemas de protección radiológica se ha establecido que no existe un nivel “seguro” de radiación, principalmente porque no se ha logrado establecer una dosis umbral en el que la exposición no cause ningún efecto (2). Se ha establecido como dosis baja de radiación lo equivalente a 0.1 Sv en todo el cuerpo, sin embargo, existen profesiones, como los radiólogos, son expuestos a dosis mínimas durante largos periodos de tiempo, aumentando la probabilidad de aparición de un efecto estocásticos como el cáncer (2).

III.3.2. Efectos deterministas

Los efectos deterministas se presentan cuando se sobrepasa la dosis de radiación por encima del umbral establecido, por lo que mientras se esté por debajo del umbral no deberían de presentarse dichos efectos, en este tipo de efectos la gravedad del daño es en función de la dosis recibida y provoca muerte celular de un número considerable de ejemplares (2, 21, 37, 38).

Los efectos deterministas por lo general son consecuencia de una alta dosis de radiación en un periodo relativamente corto de tiempo y suelen aparecer de manera inmediata posterior a la exposición o en periodo corto después de esta, un ejemplo sería los daños provocados por las

bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki (2, 21, 37). Por lo general, estos efectos no es común que aparezcan en los trabajadores de lugares donde se utiliza de manera normativa la radiación, ya que dentro de los manuales de práctica se encuentran las guías necesarias para evitar recibir dosis por encima del umbral (2).

Es posible diferenciar lo que significa “muerte celular” en una célula no proliferativa y en una que tiene la capacidad de dividirse, en cuanto a las células diferenciadas que no proliferan la muerte celular se presenta cuando la célula ha perdido la capacidad de función para la que está especializada, y, el mismo proceso para las células que pueden dividirse significaría la pérdida de capacidad para llevar a cabo la proliferación (37).

Los sistemas de renovación rápida son los que por lo general presentan efectos deterministas, estos incluyen la piel y el tejido hematopoyético, de ahí que las primeras manifestaciones clínicas sean en la piel y leucemias (21).

III.3.3. Tipos de acción de la RI

La acción que puede ejercer la RI varía de distintos factores como el tipo de tejido o célula que es irradiado, el tipo de radiación utilizada, el tiempo de exposición a esta al igual que la dosis administrada (34).

La radiación afecta principalmente la molécula de DNA, debido a que la energía emitida perjudica tanto a pirimidinas como a purinas, siendo estas últimas las más sensibles a la exposición (39). Las regiones del genoma con alto porcentaje de nucleótidos CG son las porciones más propensas a sufrir lesiones por la RI a causa de que forman un surco de mayor tamaño, permitiendo la entrada de especies reactivas de oxígeno (*ROS*, del inglés *Reactive oxygen species*) y especies reactivas de nitrógeno (*RNS*, del inglés *Reactive nitrogen species*)

no obstante, los daños no se limitan a solo material genético, sino que también puede estropear estructuras celulares como la mitocondria, la membrana plasmática, el citoesqueleto y cualquier organelo que componga la célula (9, 39).

El DNA al ser una molécula clave en el correcto funcionamiento y metabolismo de una célula, es imprescindible que se mantenga en óptimas condiciones, por ende, al verse afectada por la RI se presenta un desajuste de la homeostasis celular (9).

Los tipos de acción de la RI sobre el DNA es posible clasificarlo en dos tipos de acciones, la directa y la indirecta (34, 40).

III.3.3.1. Acción directa

En la que por medio de la excitación de electrones propia de la ionización, se produce la ruptura de una molécula de forma irreversible, dando lugar a dos moléculas, como el DNA nuclear (34). El principal daño que puede sufrir el DNA es la ruptura de doble cadena (*DSB* del inglés *Double Strand Breaks*) por la interacción directa con la RI o los daños a enzimas y proteínas estructurales (9, 41, 42).

III.3.3.2. Acción indirecta

La acción indirecta afecta al citosol y a las moléculas suspendidas en este (43). La RI provoca la alteración de otro tipo de moléculas diferentes al DNA y su modificación puede resultar en otra molécula diferente con capacidad citotóxica, como la transformación del agua en especies reactivas de oxígeno, átomos de hidrógeno y electrones hidratados ya que pueden difundirse por el espacio y causar daño al DNA de manera indirecta (Figura 2) (34, 43).

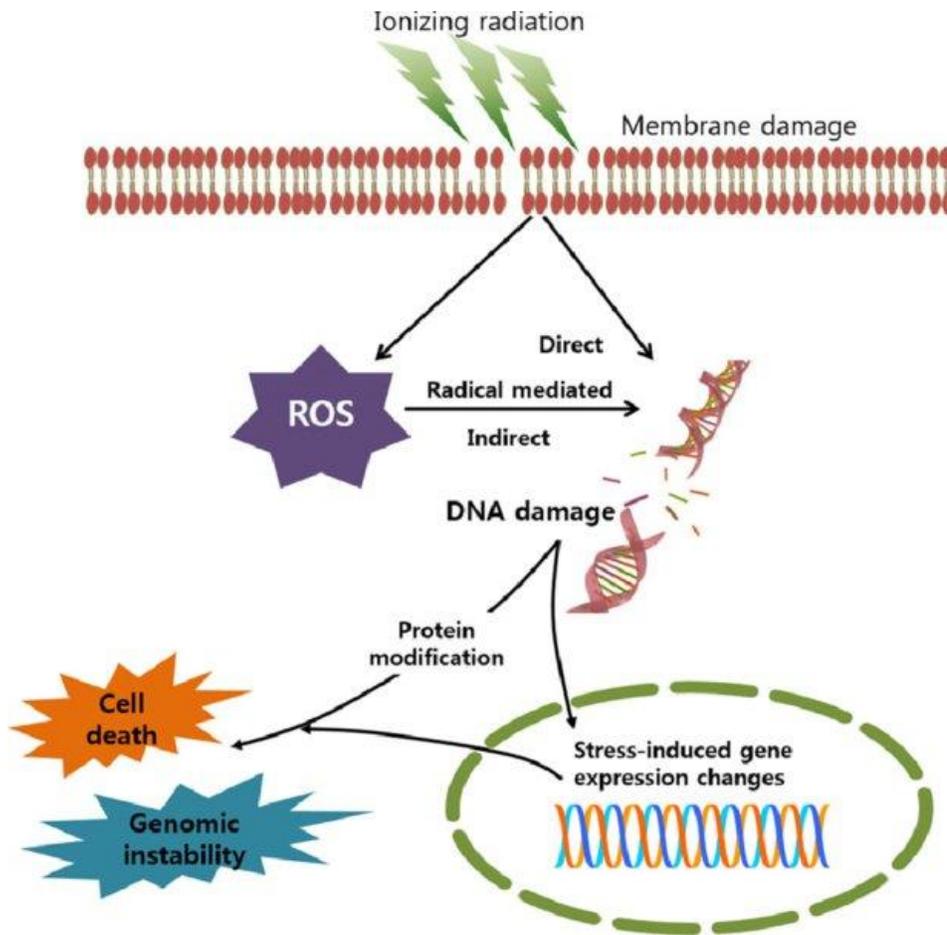


Figura 2. Tipos de acción que puede ejercer la radiación ionizante en el DNA.

Cuando una célula es expuesta a radiación ionizante el material genético de esta puede sufrir alteraciones ya que la radiación ionizante golpea la membrana celular llegando a permitir la permeabilidad de la energía que luego golpea moléculas y organelos celulares produciendo radicales libres que llegan al núcleo y posteriormente al material genético, a este tipo de acción se le conoce como acción indirecta, debido a que la radiación ionizante no golpea directamente el DNA, caso contrario de la acción directa, en el cual la radiación ionizante incide directamente sobre el DNA causando daños. Tomado de Jeong y col (2017).

III.4. REGULACIÓN DE RADIACIÓN EN MÉXICO

III.4.1. NOM-012-STPS-2012

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-012-STPS-2012, que habla sobre las condiciones de seguridad y salud en los centros de trabajo donde se manejen fuentes de radiación ionizante, estableciendo que el encargado del centro de trabajo debe proporcionar al POERI el equipo de protección personal (EPP) adecuado para el tipo de trabajo que se está realizando, capacitarlos para llevarlo a cabo, así como mantenerlos actualizados con los manuales de manejo y desecho de material radioactivo, informar a todo el personal los riesgos que conlleva trabajar expuestos a RI, realizar una evaluación médica antes de comenzar a trabajar y cada 12 meses repetirla (26).

De acuerdo con el Reglamento General de Seguridad Radiológica se establece que en 1 año la exposición a radiación ionizante en el POERI no debe exceder la dosis límite para efectos estocásticos de 50 milisievert (mSv) y la dosis anual para efectos no estocásticos se establece en 500 mSv incluyendo todos los tejidos a excepción del cristalino donde el límite se disminuye a 150 mSv (44)

III.4.2. NOM-026-NUCL-2011

La NOM-026-NUCL-2011 referente a la Vigilancia médica del personal ocupacionalmente expuesto a radiaciones ionizantes, hace mención que es fundamental monitorear la salud de los POERI ya que pueden presentar cambios en su estado de salud a consecuencia de la exposición a RI, por lo tanto, esta norma establece los parámetros médicos que son necesarios evaluar y la periodicidad de éstos (45).

Se comienza el proceso con el registro de los datos personales del candidato a trabajador, así como sus antecedentes de exposición a RI (45). Posteriormente se realiza un examen médico del candidato antes de ser contratado, incluyendo antecedentes familiares y análisis hematológico y bioquímico (Tabla 1) (45).

Se establece que la evaluación médica se debe realizar de manera anual incluyendo un registro exhaustivo de signos vitales, exploración de aparatos y sistemas, también repetir los exámenes de laboratorio (Tabla 1), así como incluir el historial dosimétrico del POERI y el tipo de radiación al que está siendo expuesto (45).

Tabla 1. Exámenes hematológicos realizados al POERI

Se establecen los análisis hematológicos que se deben realizar tanto a los candidatos a trabajar en un centro que utilice radiaciones como a POERI, según la NOM-026-NUCL-2011.

Exámenes de laboratorio que comprendan:	a) Grupo sanguíneo y Rh Serie roja <ul style="list-style-type: none">• Recuento de Hematíes• Cifra de Hemoglobina• Valor Globular• Valor Hematocrito• Alteraciones Morfológicas de la Serie Roja Serie blanca <ul style="list-style-type: none">• Recuento de Leucocitos• Formula Leucocitaria• Alteraciones morfológicas• Presencia de formas jóvenes Serie trombocitaria <ul style="list-style-type: none">• Recuento de Plaquetas
	b) Pruebas bioquímicas <ul style="list-style-type: none">• Urea• Glucosa• Ácido Úrico• Creatinina

III.4.3. Biodosimetría

Para lograr comprender los efectos que puede tener la RI en los POERI es necesario definir el término de dosimetría que consiste en estimar la dosis recibida de RI por un individuo en un evento accidental, de modo similar que es utilizado en los trabajadores que dentro de su labor son expuestos a radiación (46).

III.4.3.1. Dosímetro

El dosímetro es usado de manera individual, de manera que cada trabajador cuenta con uno exclusivamente para su uso personal, este es un dispositivo utilizado para medir la cantidad de radiación a la que están expuestos el POERI durante su jornada de trabajo (47). Estos dispositivos tienen un tiempo de vida aproximado de un mes, pasado ese tiempo son enviados para su posterior análisis, comparando la dosimetría registrada con los niveles relativamente seguros propuestos de manera internacional (47, 48).

De acuerdo con la Comisión Internacional de Protección Radiológica (*ICRP*, del inglés *International Commission On Radiological Protection*) se ha establecido un límite de dosis efectiva de: 20 mSv/año; promediado en 5 años y que la dosis efectiva no llegue a superar los 50 mSv en un año (48).

III.5. EFECTOS DE LA RI EN LA SALUD DE POERI

La RI es una de las herramientas más utilizadas en el campo médico para diagnóstico, donde el POERI, es expuesto a la radiación de manera crónica, en atención a la cual se han diseñado estrategias para minimizar la irradiación y la identificación de marcadores biológicos que pueden ser utilizados como indicadores del estado de salud de POERI (49, 50, 51, 52).

Algunos parámetros utilizados como indicadores del estado de salud de POERI son los parámetros hematológicos como la biometría hemática completa debido a que existe evidencia sobre los efectos de la exposición a RI a nivel hematopoyético, no obstante, estos cambios se han estudiado principalmente en individuos involucrados en accidentes radiológicos (52). Con el paso del tiempo se planteó la probabilidad de que la exposición a bajas dosis de RI de manera crónica como el POERI podría ocasionar daños en la salud, debido a esto se analizaron variables hematológicas para monitorear el estatus de salud debido a la radiosensibilidad que presenta el tejido hematopoyético, debido al daño sufrido en la médula ósea, bazo y ganglios linfáticos (9, 38, 52, 53, 54).

De la misma manera las pruebas bioquímicas se analizan mediante una química sanguínea (52, 55). El parámetro ácido úrico (AU) se utiliza como un indicador de funcionamiento renal y metabólico, al igual que para orientar el diagnóstico de diversas patologías como leucemia, fallo renal o psoriasis, así como para monitorear la respuesta ante un medicamento (56). Se ha reportado que la exposición a RI causa un incremento en la cantidad de AU, llegando a colegir que dicha exposición provoca un incremento de ROS, que a su vez, aumenta los valores de ácido úrico en un intento de controlar el estrés oxidativo mediante su actividad antioxidante, siendo propuesta la variable de ácido úrico como el más representativo en cuanto a características bioquímicas medibles en el POERI (56).

Otros parámetros analizados en la química sanguínea son la creatinina (Cr) y el nitrógeno ureico en sangre (*BUN*, del inglés *Blood urea nitrogen*) porque la exposición a RI puede alterar los valores séricos de la Cr al igual que los niveles de *BUN* como resultado de un daño al tejido renal y la generación de mayor cantidad *ROS* en comparación con los antioxidantes provocando la aparición de estrés oxidativo, representando la probabilidad de lograr generar modificaciones

histológicas y fisiológicas a causa de la respuesta celular ante la exposición al genotóxico (57, 58, 59). Además, el exceso de triglicéridos en conjunto con etiquetas epigenéticas funcionan como desencadenante para la producción de *ROS* (60).

Asimismo, se evalúa la cantidad de colesterol sérico, debido a que cuando existe un exceso de este lípido a nivel hepático disminuye la actividad enzimática de ciertas proteínas como p53, *ATM* y *H2HX*, permitiendo la acumulación de daños al DNA; por otro lado, el aumento de *ROS* provoca almacenamiento de colesterol (61, 62). Además, se analizan los niveles de glucosa en sangre, ya que la RI puede alterar el metabolismo de la glucosa, este fenómeno se presenta cuando el material genético de las células madre del tejido adiposo o de células musculoesqueléticas se daña a causa de las *ROS* producidas por la RI; el mecanismo por el cual la RI afecta dicho equilibrio sigue en discusión, sin embargo se ha hipotetizado que la lesión provocada por la exposición a este tipo de energía se produce a nivel epigenético al cambiar el patrón de metilación del DNA dado que disminuye la expresión de la DNA metiltransferasa (63).

Otra área ampliamente utilizada es la citogenética como el análisis de Intercambio de Cromátidas Hermanas (ICH) (64).

Al ser el DNA la molécula con mayor registro de daño se cuenta con evidencia de que la ruptura de una o las dos hebras puede alterar los cromosomas del POERI, por consiguiente, el análisis citogenético de los trabajadores se propone como una metodología factible para saber si la exposición crónica en baja dosis a las que son sometidos han causado alguna alteración (42). Las alteraciones citogenéticas han fungido como un biomarcador que permite estimar la dosis de radiación a la que fue expuesto un individuo (46).

III.6. INTERCAMBIO DE CROMÁTIDES HERMANAS (ICH)

El intercambio de cromátides hermanas es resultado de un proceso de reparación de DNA por medio de recombinación de extremos homólogos presentado durante el ciclo celular (39, 65).

III.6.1. Ciclo celular

El ciclo celular es la serie de pasos que una célula debe experimentar para lograr la división celular y es rigurosamente regulado por distintas moléculas y modificaciones epigenéticas (66, 67). El proceso del ciclo celular es dividido en dos fases generales conocidas como: interfase, que a su vez incluye 3 fases (G1, S y G2) y la Mitosis también conocida como Fase M (67, 68). Existe la fase G0, conocida también como estado quiescente, ya que la célula se encuentra en estado de “reposo” en cuanto a la división celular, es decir, no se encuentra en división, aunque está realizando las funciones de acuerdo con su estirpe celular y mantiene un metabolismo activo, sin embargo, en caso de que el microambiente sea favorable y sea necesario, la célula puede regresar al ciclo celular (67, 68, 69, 70)

Fases del ciclo celular

- Fase G1. Se le llama fase “G” del inglés *gap* ya que se considera como una brecha entre la mitosis y fase S, que permite la preparación de la célula para dividirse debido a estímulos extracelulares y factores de crecimiento que crean el microambiente necesario para pasar a la síntesis de material genético, ya que en este punto la célula es diploide (2N) (67, 68).
- Fase S. Durante la fase S se duplica el DNA de la célula utilizando las cromátides de los cromosomas como moldes para la formación de nuevas cromátides, asegurando así que

ambas células hijas tendrán la misma cantidad y calidad de material genético que permita su supervivencia (67, 68). Durante esta fase la célula es posible encontrar como $2N$ o $4N$, puesto que la cantidad de material genético varía dependiendo del estadio de replicación en el que se encuentre la célula (67). Durante la fase S es posible que se presenten errores en la replicación y uno de los mecanismos utilizados para revertir estos daños es la unión o recombinación de extremos homólogos (*HR*, del inglés *Homologous recombination*) que proporcionan una reparación sin pérdida de DNA (71).

- Fase G2. Esta fase es una brecha entre la Fase S y la Mitosis (68). La fase G2 permite continuar con el crecimiento celular mediante la formación de organelos y organización del material genético (67).
- Fase M o Mitosis. La Mitosis es la fase donde la célula comienza activamente con la división celular, está dividida en 6 fases: profase, prometafase, metafase, anafase, telofase y citocinesis (72). Durante la mitosis la cromatina es condensada para que el material genético no sufra daño durante el proceso de separación necesario para dividir el material genético entre las dos células hijas, otorgándole una cromátide a cada célula resultante (Figura 3) (72).

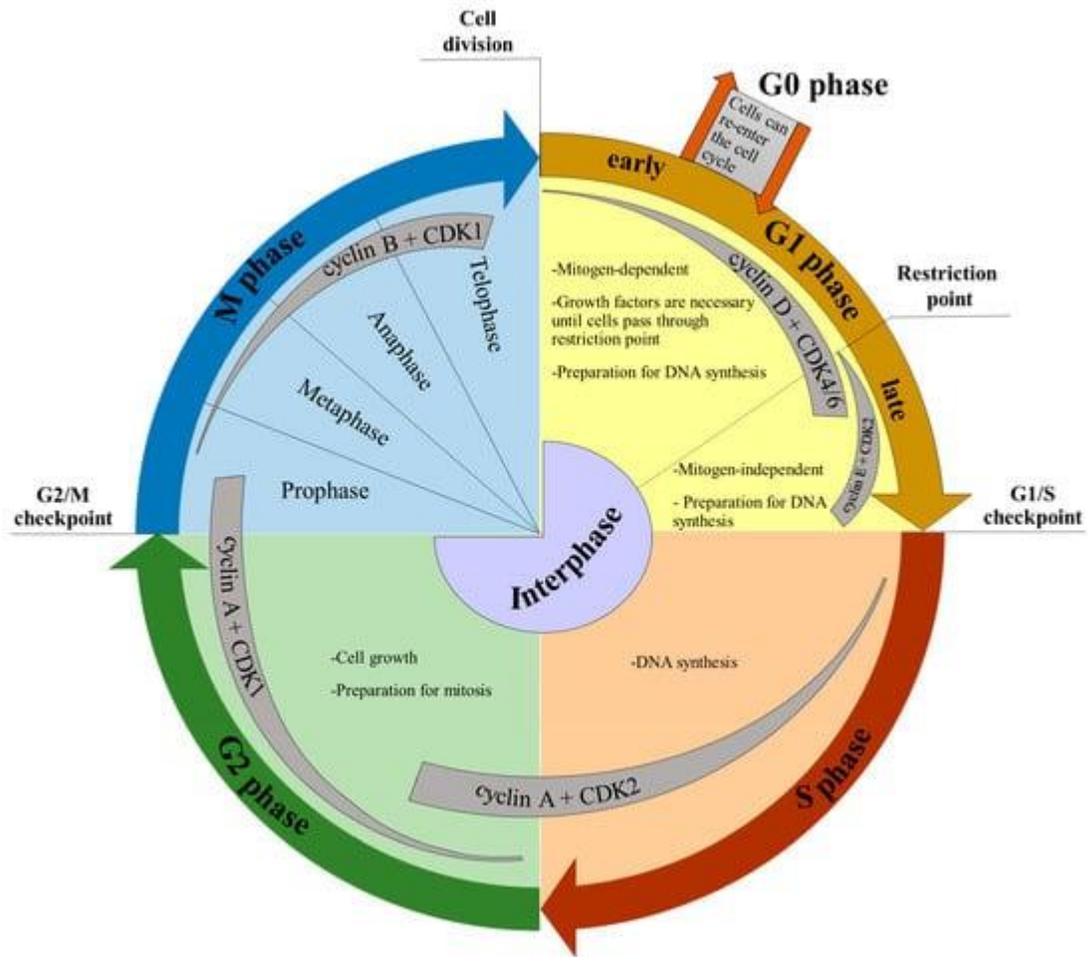


Figura 3. Ciclo celular de células de mamífero

Los mamíferos comparten el mecanismo y ciclo de división celular, el cual está dividido en dos fases generales: interfase y mitosis, al mismo tiempo estas fases cuentan con etapas que las conforman. Interfase (color lila claro) donde la célula es $2N$, comprende fase G1 (en color amarillo), S (en color rojo) y G2 (en color verde) donde la célula ya tiene duplicado el ADN por lo que es $4N$, por lo que refiere a la Mitosis (en color azul) la célula comienza a repartir el material genético de manera equitativa entre las dos células hijas, donde cada una tendrá un set cromosómico $2N$. Se indican los *checkpoints* entre las fases al igual que las ciclinas y CDKs involucradas en su progresión. Tomado de Ligasová y col (2019).

III.6.1.1 Regulación del ciclo celular

El mecanismo de ciclo celular y su regulación es compartido por las células eucariota que conforman distintos organismos, este proceso es regulado de manera estricta por una variedad de moléculas que de manera secuencial activan o desactivan otras moléculas y etiquetas epigenéticas que permiten la progresión del ciclo (67). Las moléculas mayormente descritas como encargadas de la regulación del ciclo celular son las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs), al igual que la fosforilación de estas; existen distintas ciclinas denominadas con letras A, B, C, D y E, al igual que varias CDKs, como la CDK1, CDK2, CDK4 y CDK6, que ayudan a la célula a completar todas las fases gracias a las diferentes concentraciones presentadas de estas proteínas (67, 68, 72).

Dentro del ciclo celular existen distintos puntos de evaluación entre una fase y la siguiente, conocidos como “*checkpoints*”, donde las ciclinas y *CDKs* realizan una revisión de las condiciones celulares y el estado del material genético, inmediatamente después de confirmadas las cualidades adecuadas se avanza en el ciclo celular (Figura 3) (68, 72).

III.6.1.2 Reparación de material genético en el ciclo celular

El proceso de la división celular representa un evento de sumo estrés para la célula, lo que la hace susceptible a cometer errores en cualquiera de las fases, siendo la fase S y la fase M las más críticas ya que se duplica el material genético, se condensa y se separa en las células hijas, además el genoma se puede ver afectado por la exposición a factores externos genotóxicos como la RI, quimioterapia e infecciones virales o por la interacción de factores endógenos como *ROS* o *RNS*, resultantes del metabolismo celular o la acción indirecta de la RI, debido a esto es fundamental que la célula cuente con mecanismos de reparación de DNA para mantener la estabilidad genómica (39, 43, 73, 74).

Es estimado que al día cada célula humana está expuesta a 10^5 eventos que pueden lesionar el DNA (74). Existe un sistema de reparación conocido como Respuesta del daño al DNA (*DDR*, del inglés *DNA Damage Response*), el cual es finamente regulado por medio de distintas vías de señalización durante los *checkpoints* del ciclo celular con el objetivo de salvar a la célula que sufrió la destrucción de DNA y permitir su subsistencia (39, 74). En caso de que el *DDR* falle puede provocar apoptosis celular o comienza la acumulación de mutaciones en la célula, desestabilizando el ciclo celular y aumentando el riesgo de desarrollo de neoplasias (74, 75).

El procedimiento realizado por *DDR* para la reparación del DNA esta orquestado por la presencia de receptores, transductores de señal y efectores; en caso de existir anomalías se activan distintas vías de reparación, que son parte de *DDR*, adecuadas para el insulto biológico reportado y llegar a su restauración durante distintos eventos celulares dentro del ciclo celular como la duplicación de DNA (74).

Se ha documentado que la estructura de doble hélice de DNA es susceptible a la ruptura de una de las cadenas que lo conforman, generando roturas de una sola hebra (*SSB*, del inglés *Single-Strand Breaks*) que, si bien requiere reparación, es relativamente sencillo lograrlo, por otro lado, si el daño se presenta en ambas hebras del DNA, se crea una *DSB* que compromete la supervivencia de la célula (73, 74). El estrés oxidativo altera la estructura de diversas moléculas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, una de las alteraciones provocadas al DNA son las *DSB* que en cuestión de minutos activan el *DDR* con el objetivo de censurar el microambiente donde se está llevando a cabo el ciclo celular y actuar de manera adecuada (58).

Las *DSB* activan *DDR*, que dependiendo de varios factores, permiten la reparación de estas mediante dos vías: la unión de extremos no homólogos (*NHEJ*, del inglés *Non Homologous End Joining*) o la recombinación homóloga (*HR*, del inglés *Homologous Recombination*) (73, 76). La *HR* es el método de reparación del DNA que confiere una mayor conservación de material genético en virtud de que utiliza a la cromátide hermana o homóloga como molde para reponer el material genético faltante a causa de la lesión, lo que genera ICH (73, 74, 77). La recombinación homóloga se presenta únicamente durante la Fase S y la Fase G2 del ciclo celular (73).

III. 6.1.2.1 El mecanismo molecular de la *HR*

Una vez que se provoca una *DSB*, se debe reconocer de manera muy rápida para lograr actuar sobre ella, es decir, repararla y así conseguir que la célula no muera debido al daño en el material genético, el sistema de reparación por *HR* se considera como el método más preciso para reponer el DNA faltante debido a que se utiliza la secuencia homóloga como base, dando lugar a ICH (39, 65).

La molécula encargada de identificar la ruptura es la poli-(ADP-ribosa)-polimerasa-1 (*PARP1*) cuya función es permitir la formación de una cadena poli-(ADP-ribosa) que facilita la unión del complejo *MRN* al sitio de daño (39, 76).

La proteína 1 mediadora del punto de control del daño de DNA se encarga de exacerbar la cascada de señalización para reparar la *DSB* mediante el reconocimiento epigenético por parte de la RNF8 (del inglés (*RING*) *finger protein 8*) y la proteína RNF168 (del inglés (*RING*) *finger protein 168*) se encargan de transducir las señales para activar los mecanismos de reparación por *NHEJ* o *HR* (78).

Así mismo, CtIP (del inglés *C-terminal binding protein 1 (CtBP1) interacting protein*), cumple diversas funciones dentro de la reparación de *DSB* mediante *HR*, como la selección del método de reparación del DNA, ya sea *NHEJ* o *HR*, al igual que es un mediador en la unión al sitio dañado del complejo MNR, conformado por Mre11-RAD50-NBS1 (39, 79).

De igual manera, CtIP requiere de modificaciones epigenéticas como la fosforilación para cumplir su rol, la adición de esta etiqueta es generada por la acción de CDKs y cinasas ATM, que induce la transcripción de molecular inhibitorias del ciclo celular, además CtIP se relaciona con BRCA1, cuyo papel en la resolución de *DSB* aun no es claro, se ha dilucidado que puede tener una función de proteína regulatoria mediante fosforilación bloqueando la actividad de 53BP1, RIF1 y PTIP, moléculas necesarias para la resolución de *DSB* mediante *NHEJ* (73, 79, 80).

Las funciones de los componentes del complejo MNR se ha evaluado por separado, llegando a identificar que Mre11 cuenta con actividad endonucleasa, exonucleasa y de unión al DNA, por otro lado, NBS1 interactúa físicamente con CtIP, mientras tanto RAD50 es parte de las proteínas SMP (del inglés *Structural Maintenance of Chromosome*) encargadas del mantenimiento de la arquitectura de los cromosomas al tener una estructura similar a la cohesina y condensina (65, 73, 80).

El complejo MNR (Mre11-RAD50-NBS1) se ha catalogado como una molécula indispensable para la reparación de *DSB* debido a que realiza distintas funciones, como la señalización de la cromátide dañada, reclutamiento de otras moléculas, la activación de ATM y la inducción de la digestión del extremo 3'-5' de la región afectada, produciendo un extremo de

DNA monocatenario (*ssDNA*, del inglés *Single-stranded-DNA*) que induce la síntesis de la hebra en sentido 3' (65, 80).

Para retirar el extremo 5'-3' mediante digestión enzimática actúan las endonucleasas EXO1 y BLM/DNA2 (73). Una vez que se cuenta con una hebra sencilla de DNA entran en juego Rad54 y RPA (del inglés *Human replication protein A*) que previene la degradación del DNA y la formación de estructuras secundarias, a su vez que interactúa con Rad51 para ser sustituida por esta, que potenciada por BRCA1, BRCA2 y PALB2 logra formar un filamento constituido por monómeros de nucleoproteínas imprescindibles para *HR* (73, 81, 82).

Justo después de que el extremo 3' de la *ssDNA* queda expuesta, BRCA2, BRCA1 y PALB2 estimula la participación de la proteína Rad51 que comienza a formar el filamento que escanea la cromátide hermana intacta con la finalidad de buscar y seleccionar la región de DNA homólogo que ha sido dañado, posibilitando la polimerización del DNA (73, 82).

La resolución del mecanismo *HR* puede ofrecer dos resultados distintos, el primero es la formación de un bucle-D o en la formación de un heterodúplex compuesta por dos cadenas de DNA llamada unión de *Holliday* (*HJ*, del inglés *Holliday Junction*) que ocurre cuando ambos extremos del DNA dañado toman a la cromátide homóloga como molde o donante; para la disolución de una *HJ* participa la topoisomerasa III α y la helicasa BLM unida a RMI1 y RMI2, por otro lado, también existe el proceso de resolución, en el cual la *HJ* requiere de la actividad de la nucleasa GEN1 y de las enzimas endonucleasas SLX4-SLX1/MUS81-EME1 para no producir un recambio de material genético, en caso de que BLM no este activo, se presentan las recombinaciones de DNA dando lugar a un intercambio de cromátides hermanas (73, 82, 83).

Las endonucleasas LSX4-SLX1/RMI1-RMI2 que participan en la resolución de las *HJ* no reconocen secuencias específicas de nucleótidos, sino que identifican estructuras de DNA que permiten su anclaje y son activadas por CDKs fosforiladas; LSX4 y LSX1 interactúan provocando su activación y presentan la cualidad de reconocer a los extremos 3' o 5', lo que ofrece múltiples sitios de unión al DNA (83, 84).

MUS81 requiere de fosforilación, al igual que de la dimerización con RMI1 o RMI2 para activar la función de nucleasa, sin embargo, este dímero solo realiza cortes en el extremo 5' de la *HJ*, mientras que GEN1 produce cortes en *HJ* dando paso a extremos cohesivos en el extremo 3' (83, 84). El aumento o disminución de alguna de estas resolvasas, como MUS81, LSX4, LSX1 y GEN1, al igual que la ausencia de BLM, tiene un impacto en la cantidad de ICH (Figura 4) (84, 85).

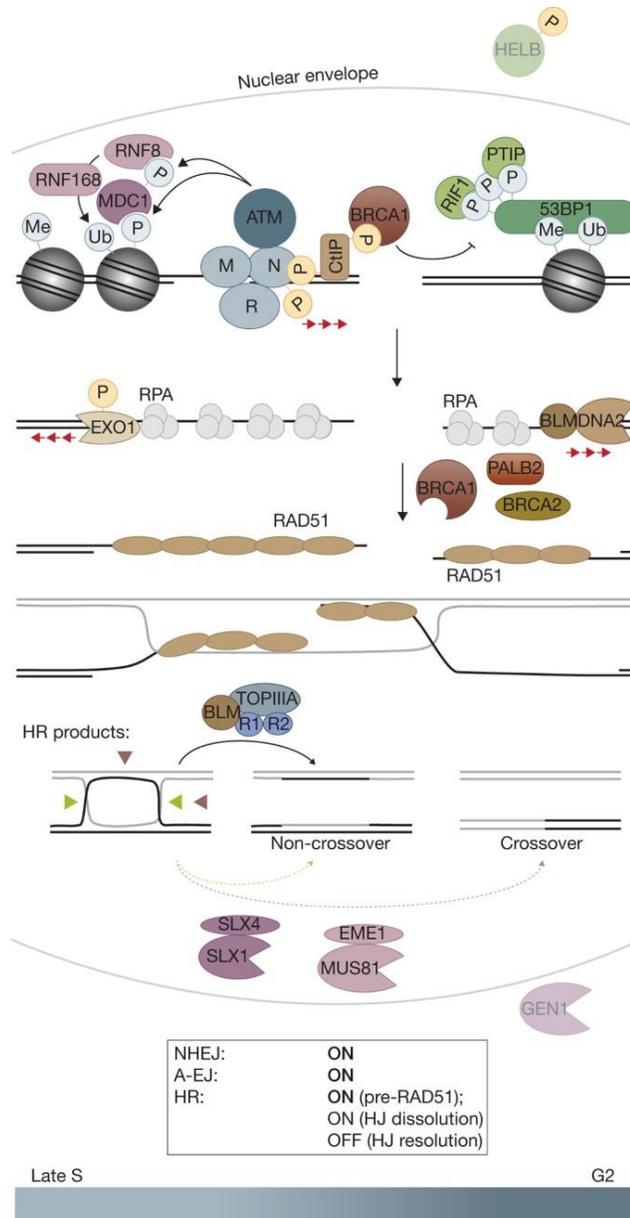


Figura 4. Mecanismo molecular de reparación mediante Recombinación Homóloga

Se muestran las marcas epigenéticas y moléculas involucradas en la reparación de *DSB* en el DNA como el complejo MNR, CtIP, BRCA1 que reconocen el sitio de daño, RPA que es sustituida por Rad51 que forma el filamento encargado de la búsqueda de la secuencia homóloga para reponer el material genético dañado, formando una *HJ*, dependiendo del microambiente celular, es el tipo de corte que se presenta, la resolución de la *HJ* puede generar recombinación de material genético. Retomada de Husted y col (2017).

III.6.2. Técnica citogenética Intercambio de Cromátides Hermanas (ICH)

El conteo de ICH ha sido reportado como un biomarcador de exposición a RI, ya sea de exposición o como indicador de efectos tempranos en el DNA, revelando la presencia de inestabilidad cromosómica durante la replicación de material genético (86).

La técnica citogenética de ICH permite visualizar los intercambios de material genético entre cromátides homólogas gracias a la sustitución de la timidina por Bromodesoxiuridina (BrdU) en los linfocitos, los cuales son detenidos en metafase utilizando colchicina y posteriormente se utiliza tinción diferencial con Hoechst 33258 y Giemsa, generando un patrón de manchas conocido como “arlequín” (87, 88).

Es necesario exponer que el proceso de la formación de en promedio 4 ICH aparecen de manera natural durante el ciclo celular, sin embargo, cuando el número de intercambios se encuentra por encima del promedio puede indicar genotoxicidad (65, 88, 89, 90).

Al igual que existen factores del estilo de vida que pueden llegar a impactar en la cantidad de ICH, por ejemplo, fumar tabaco o el consumo de alcohol (91)

El ICH ha sido reportado como una de las técnicas de análisis citogenético aplicable en POERI, ya que la citotoxicidad inducida por la exposición a RI induce *DSB* de DNA al romper los enlaces fosfodiéster parte de la estructura del DNA, generando los intercambios de fragmentos de cromátides (12). Se ha encontrado que este personal expuesto presenta un número mayor a lo promedio encontrado en células no irradiadas (Figura 5) (8, 92, 93, 94).

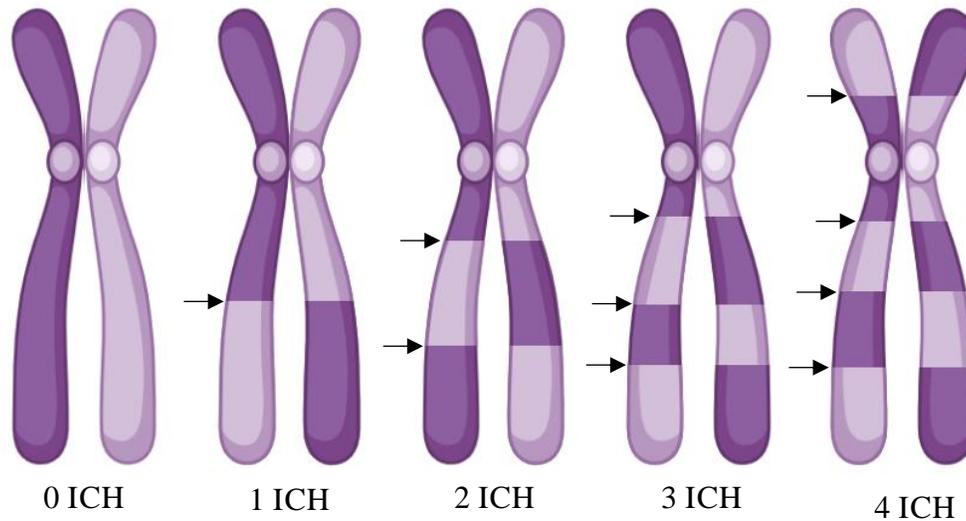


Figura 5. Conteo de Intercambio de Cromátides Hermanas

En la técnica de ICH se analizan cromosomas metafásicos con las 2 cromátides condensadas, teñidas con Hoechst 33258 y Giemsa, revelando la cromátide molde (pintada en lila oscuro) y la cromátide recién sintetizada que contiene BrdU (pintada en lila claro). El patrón de bandeo muestra cromosomas arlequines. Los intercambios son señalados con flechas negras:

- 0 ICH. No muestra intercambios, se muestra una cromátide totalmente oscura y la otra completamente clara.
- 1 ICH. Presenta 1 intercambio de cromátides hermanas.
- 2 ICH. Presenta 2 intercambios de cromátides hermanas.
- 3 ICH. Presenta 3 intercambios de cromátides hermanas.
- 4 ICH. Presenta 4 intercambios de cromátides hermanas.

Elaborada con BioRender.

III.7. MiRNAs

Con el paso de los años se han investigado nuevas metodologías para monitorear al POERI en distintos ámbitos, siendo el área médica el que cuenta con un mayor porcentaje de fuerza laboral (42). Una molécula de interés en las últimas décadas son los microRNAs (miRNAs) que se ha reportado un gran potencial como biomarcadores de múltiples patologías (95, 96).

Los miRNAs endógenos son pequeñas secuencias de RNA (del inglés *Ribonucleic acid*) de entre 19–25 nucleótidos conservados evolutivamente, que conforman la clase más amplia de material genético no codificante y se cuenta con registros de que este tipo de RNA está presente en mamíferos, plantas e incluso virus (13, 14, 15, 97).

El proceso principal en el que están involucrados los miRNAs es la regulación negativa de la expresión de genes, ya que regularizan la expresión postranscripcional uniéndose a la región 3' *UTR* del RNA mensajero (*mRNA*, del inglés *messenger RNA*), impidiendo el proceso de traducción a proteína o induciendo la degradación del mRNA, esto según sea el emparejamiento perfecto o imperfecto que presente la secuencia del miRNA con el mRNA (13, 14, 15, 97).

Se estima que los miRNAs equivalen del 2 al 3% del genoma humano completo, de la misma manera se sospecha que un solo miRNA tiene la capacidad de regular más de 200 transcritos de mRNA, al igual que un solo mRNA puede ser blanco de distintos miRNAs; actualmente se cuenta con un registro en bases de datos de aproximadamente de 4000 miRNAs humanos (96, 98).

Las funciones de los miRNAs han sido estudiadas en distintos cultivos celulares y modelos animales, llegando a la conclusión de que están involucrados en una amplia variedad de funciones celulares como la diferenciación celular, apoptosis, metabolismo, embriogénesis y comunicación intercelular, entre otros, sin embargo, también se ha reportado que una desregulación de sus expresión, ya sea sobreexpresión o subexpresión, están asociadas con la aparición de patologías como algunos tipos de cáncer, así como enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, renales y demás (13).

Se ha reportado que cada tipo celular expresa un patrón diferente de expresión de miRNAs ya que dependiendo de la especialización de la célula son los genes que necesita expresar o silenciar (99). Por lo que se han propuesto como moléculas biomarcadoras para distintas patologías, aunado que se ha demostrado que están presentes en distintos fluidos corporales como suero y plasma sanguíneos, lágrimas y orina, por lo que su simple acceso ha facilitado su estudio (95).

III.7.1. Estructura de MiRNAs

La estructura de un miRNA se modifica de acuerdo con el paso de maduración en el que se encuentre (100). La primer molécula en la biosíntesis es el *Pri*-miRNA que cuenta con un horquilla-tallo-bucle, al igual que una región de doble cadena y un bucle en la zona apical, llegando a medir algunas kilobases (101, 102), luego de la acción de Droscha la estructura es denominada Pre-miRNA que mide alrededor de 60 a 70 nucleótidos (102). Después la partícula de RNA sufre un segundo corte por la endonucleasa Dicer, provocando la pérdida del bucle apical, resultando en la estructura dúplex, la cual ya cuenta con la longitud promedio de un miRNA maduro, que es de 22 nucleótidos y contiene una región semilla la cual requiere de un emparejamiento del 100% con el mRNA de interés (Figura 6) (102, 103).

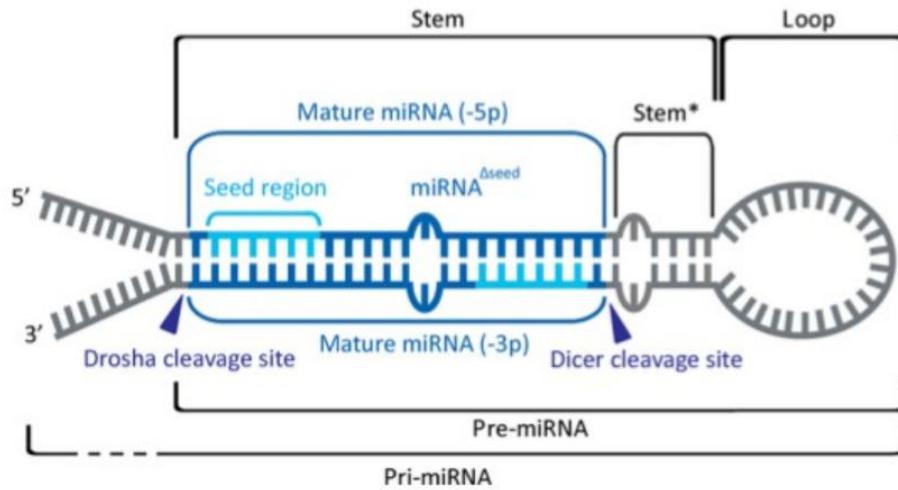


Figura 6. Estructura de un MiRNA

El conjunto representado en el gráfico en color gris, azul claro y azul oscuro hacen referencia a la Pri-miRNA con estructura horquilla-tallo-bucle. Las flechas azules indican las zonas de reconocimientos de las endonucleasas Drosha y Dicer, en estos sitios se realizan los cortes que permiten la maduración del miRNA. En color azul oscuro y claro se destaca la estructura completa de un miRNA madura, donde el azul claro representa la región semilla que se ubica entre los primeros 2 a 7 nucleótidos. Tomado de Jevsinek Skok, (2013).

III.7.2. Biogénesis de miRNAs

La biogénesis de los miRNAs se da a partir del genoma ubicado en el núcleo celular, por lo que se sospecha que su expresión es regulada por otros genes como los que codifican para proteínas y a la vez originan miRNAs o exclusivamente miRNAs (104, 105). La síntesis de miRNAs se puede dar por medio de dos vías básicas, la canónica y no canónica, también conocida como alternativa, ambas vías comienzan en el núcleo y terminan en el citoplasma (13, 100, 105).

La primera estructura en la biogénesis de un miRNA es el miRNA-primario (*Pri-miRNA*, del inglés *primary microRNA*) que tiene una longitud de 100 a 1000 nucleótidos organizados en forma de horquilla, presenta la caperuza 5 en el extremo 5' y una poliadenilación en el extremo 3' y es transcrita por la polimerasa II, para seguir con la generación de miRNAs es necesario que el Pri-miRNA sea escindido de la secuencia principal por Droscha, una ribonucleasa tipo III, que funciona en conjunto con *DGCR8* (del inglés *Double-stranded DNA-binding protein*), generando el precursor de miRNA (Pre-miRNA) (97, 106). El Pre-miRNA requiere salir del núcleo hacia el citoplasma para seguir con su maduración, es por eso por lo que la exportina 5 (*XPO5*), utilizando RAN-GTP, permite el paso del Pre-miRNA por el poro nuclear (97, 106).

Una vez en el citoplasma actúa la endonucleasa Dicer en conjunto con las proteínas TRBP y PACT, cuya función es remover el bucle al final de la estructura del Pre-miRNA para generar una estructura doble de microRNA llamada “microRNA dúplex”, es decir, las dos secuencias que formaron la unión que da lugar al tallo de la estructura inicial del miRNA que permanecen unidas por complementariedad de bases, generan la secuencia 5p en el caso del segmento que contiene el extremo 5', de igual manera, el extremo 3' origina la secuencia 3p (100, 102, 105). Una vez que las cadenas no están unidas por los extremos es posible la

separación del dúplex, una de estas cadenas es degradada mientras que la otra sigue el proceso de maduración (105).

Una vez que se tiene solo una cadena de microRNA este se incorpora a un complejo conocido como “complejo de silenciamiento de RNA” (*RISC*, del inglés *RNA induced silencing complex*) en el que posteriormente entran en juego un grupo de proteínas conocidas como Argonautas (AGO), desatacando la participación de AGO2; *RISC* es considerada la maquinaria catalítica debido a que este complejo es el encargado de la degradación o bloqueo del mRNA (Figura 7) (102, 105).

Existen otras vías de biosíntesis de miRNAs conocidas como “vía no canónica”, en las cuales es prescindible la participación de algunas endonucleasas como Droscha y Dicer (100, 105).

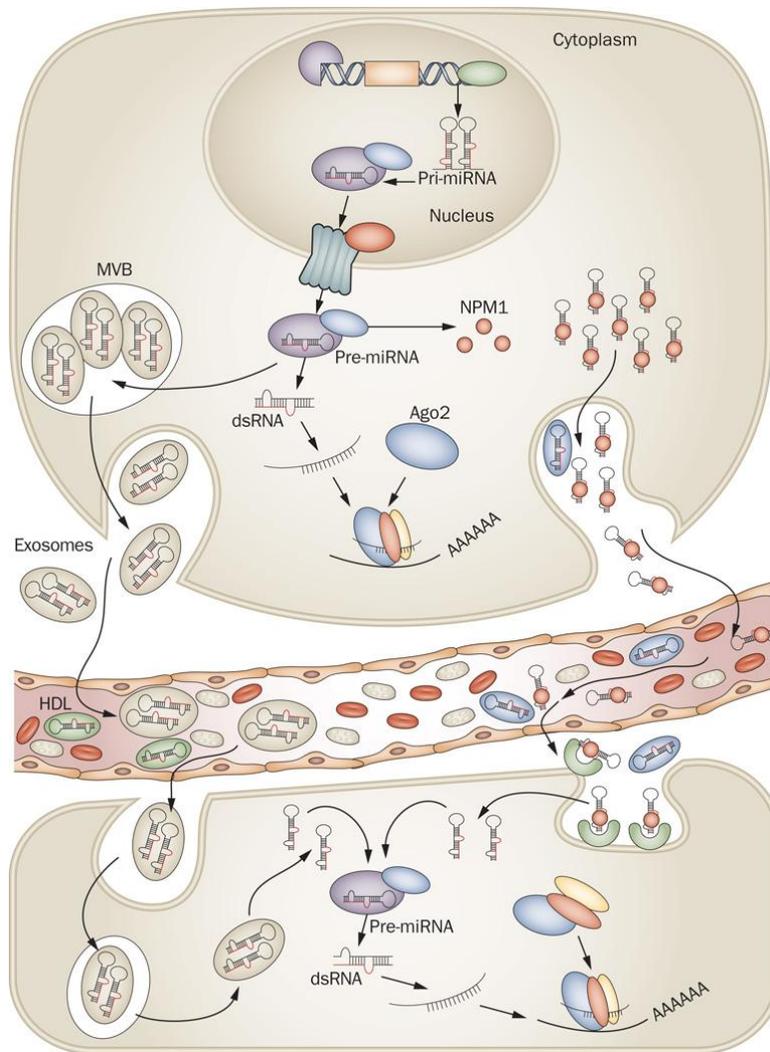


Figura 7. Biosíntesis y transporte extracelular de miRNAs

La síntesis de miRNAs comienza en el núcleo para luego migrar hacia el citoplasma, donde es posible que por distintos medios se transporten hacia el medio extracelular logrando la comunicación intercelular. El transporte se puede dividir en dependientes de vesículas o independientes de vesículas, cuando dependen de vesículas requieren estar dentro de exosomas, ectosomas, cuerpos apoptóticos, por otro lado cuando es independiente de vesículas se forman complejos miRNA-proteína con AGO2 y NPM1; todos los medios de transporte puede llegar a torrente sanguíneo para migrar hasta la célula blanco del mensaje enviado donde se fusionarán las membranas de la vesícula y la membrana celular o podrán introducirse los complejos miRNA-proteína en la célula gracias al reconocimiento por medio de receptores (15, 106, 107). Tomado de Cortez y col (2011).

III.7.3 MiRNAs extracelulares

Se ha analizado que los miRNAs pueden encontrarse en sangre total, así como también en sus componentes por separado como en el suero y plasma, cumpliendo la función de mensajeros extracelulares (108).

Un punto fundamental en la conservación estructural de los miRNAs en el espacio extracelular es la actuación en sinergia con otras moléculas para proteger la integridad del material genético ante la degradación, mediante microvesículas que sirven como transporte, al igual que mediante exosomas, también dentro de cuerpos apoptóticos, así como pueden asociarse a lipoproteínas de alta densidad (*HDL*, del inglés *High density lipoprotein*) o a proteínas AGO o nucleoformina 1 (*NPM1*) (15, 107, 108, 109). Representando así una vía de señalización intracelular/extracelular (107).

Debido a que los miRNAs se han encontrado en de manera circulante en tejido sanguíneo en el organismo es otra de las cualidades por las que se han evaluado como biomarcadores con alta sensibilidad y especificidad de distintas enfermedades, ofreciendo un diagnóstico y pronóstico a los pacientes (96).

III.7.4 MiRNAs y radiación ionizante

La exposición a RI afecta a distintas moléculas del organismo, siendo un ejemplo los miRNAs ya que se ha evidenciado que estos presentan alteración en los niveles de expresión, ya sea sobreexpresado o subexpresado, causando un desequilibrio en distintos procesos celulares como los mecanismos de reparación del DNA (110).

La exposición a RI puede resultar en la muerte celular, en la reparación de daño, o bien, en el arresto de la progresión del ciclo celular (111). Debido a que en la regulación del destino

de la célula dañada compromete una heterogeneidad molecular, es que múltiples miRNAs se afectan, ya que el insulto biológico induce la expresión o silenciamiento de distintos genes regulados por los miRNAs (111).

Se presenta diversidad experimental en cuanto a la planeación y aplicación de las pruebas metodológicas para analizar el perfil de expresión de distintas especies ante la exposición a RI, lo cual ha permitido llegar a la conclusión de que la RI altera la cantidad de miRNAs en distintas clases de organismos, facilitando la identificación de algunos miRNAs como posibles biomarcadores de exposición a RI o posibilitando una estimación biodosimétrica (17, 112).

Existe información sobre la regulación del *DDR* mediante los miRNAs, dicho sistema es activado mediante el censo molecular ante el daño al DNA, evento que sucede al momento que la RI altera la estructura del material genético mediante la aparición *DSB*; la sinergia entre la reparación de la lesión con el mecanismo *HR*, parte del sistema *DDR*, y la regulación génica postranscripcional viabiliza la relación que existe entre la RI y los patrones de expresión de miRNAs (113, 114).

Se ha reportado que es factible medir la expresión de miRNAs a partir de distintos fluidos biológicos como el suero sanguíneo, en este material biológico se han reportados distintos miRNAs asociados a la exposición o dosificación de RI absorbida, como el miR-34a-5p que se especula permite estimar dosimetría; miR-34a-5p participa en la reparación del daño de *DSB* mediante *HR* al regular la traducción de algunas moléculas fundamentales del mecanismo como Rad51 o al verse alterado por la activación de p53 (Figura 8) (16, 17, 110, 115).

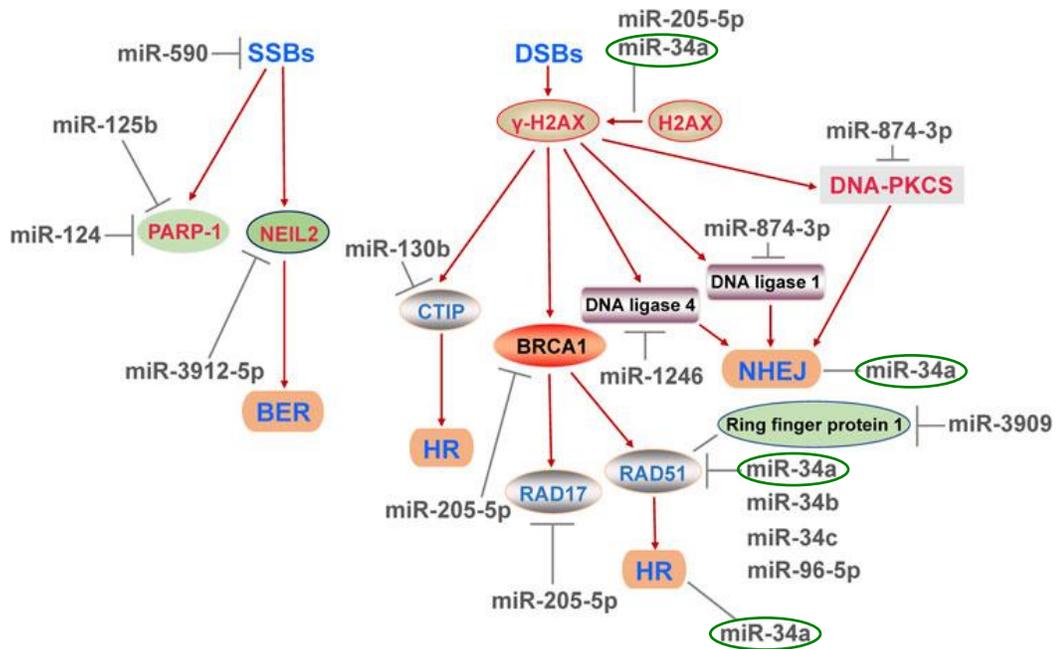


Figura 8. Vías de reparación del DNA y algunos ejemplos de miRNAs involucrados en su regulación.

Se plasman las posibles rupturas que causa la RI, ya sea *SSBs* o *DSB*, así como los mecanismos de recombinación homologa o la unión de extremos no homólogos que entrar en juego en la reparación de cada una de las lesiones; miR-34a-5p se involucra en distintos puntos de la reparación regulando una variedad de moléculas implicadas, se señala a miR-34a-5p en óvalos verdes. Modificado de Li y col (2022).

III.7.5. MiR-34a-5p

En las últimas décadas se han dedicado distintas investigaciones a identificar el patrón de expresión de miRNAs de POERI para determinar si es posible utilizar estas moléculas como biomarcadores de daño asociado a la exposición de RI, logrando identificar varios miRNAs que presentan diferencias en la cantidad de miRNAs cuantificables a nivel circulante, como miR-34a-5p, pese a esto, existen discrepancias entre los miRNAs candidatos para biomarcadores (17, 110).

El miR-34a está codificado por el gen *MIR34A* en el locus 1p36.22, y comparte el 86% de su secuencia con los miRNAs homólogos miR-34b y miR-34c; su expresión es regulada por distintas moléculas como p53, STAT3, TP63 y MYC (116, 117). La expresión de miR-34a se presenta en todos los tejidos del organismo y se cuenta con un registro aproximado de 700 mRNA que son regulados por este miRNA (118).

Debido a la gran cantidad de genes regulados por miR-34a es que se presenta una heterogeneidad en cuanto a los procesos en los que su participación está involucrada, como en la regulación de la expresión de las proteínas quinasa dependientes de ciclinas 4 y 6 (CDK4/6) que participan en la regulación del ciclo celular, al verse subexpresadas por la acción de miR-34a se induce la apoptosis (16, 17, 116, 119).

Otros genes implicados son *MET* y *STAI1* que permiten la motilidad celular, los genes *BCL2* y *SIRT1* que regulan la apoptosis o la hematopoyesis es otro proceso que es influenciado por la expresión de miR-34a-5p al regular la diferenciación de megacariocitos mediante la unión al mRNA de MYB, en la activación de células T y maduración de células B al regular al gen *FOXP1*, entre otras células hematopoyéticas (116, 118, 120).

p53 ha sido reportado como uno de los objetivos de miR-34a, a causa de la cercanía que existe entre los sitios de unión de p53 y la región promotora de *MIR34A*; por otro lado, este miRNA está involucrado en la regulación del ciclo celular al modular la expresión de dicha proteína, al igual que se ha reportado que puede inducir apoptosis cuando la célula es expuesta a RI, ya que, al dañarse el DNA, p53 induce la sobreexpresión de miR-34a-5p, evidenciando una regulación ambigua entre la proteína p53 y miR-34a-5p ante el estrés genotóxico y el desarrollo de neoplasias (16). No obstante, las células que no presentan la expresión de p53 pueden llegar a producir miR-34a-5p, indicando que la expresión de este miRNA no es exclusiva de la presencia de p53 (118).

Se ha estudiado la expresión de miR-34a en el contexto de distintas neoplasias puesto que juega un rol fundamental en el desarrollo de cáncer mediante la regulación del ciclo celular, senescencia y apoptosis, donde se ha llegado al descubrimiento de la variabilidad de cuantía de miR-34 dependiendo del tipo de cáncer, por ejemplo, el melanoma, el carcinoma hepatocelular, el cáncer pancreático y el cáncer de mama, entre otros, presentan una subexpresión de este miRNA, mientras que el cáncer papilar tiroideo presenta una sobreexpresión (116, 118, 121).

III.7.5.1 MiR-34a-5p y RI

La RI afecta a la célula de diversas maneras, dentro de las cuales se encuentran la progresión del ciclo celular, la apoptosis y la senescencia, que son censadas por múltiples moléculas para definir el destino celular, en caso de que se pueda reparar el daño entran en juego el sistema *DDR* conformado por distintas proteínas como CDK4/6, Notch1, BLC, Rad51, p53, SIRT1, MET, que a su vez son regulados por la expresión de miR-34a-5p, por lo que, en consecuencia a la exposición a RI los patrones de expresión de miR-34a se pueden ver alterados (39, 122).

Existen diversos estudios que reportan a miR-34a-5p como un posible indicador de daño producido por irradiación, ya que los resultados en modelos *in vitro* e *in vivo* en modelo animal irradiados han resultado en mayor expresión de miR-34a (122, 123, 124).

III.8. ANTECEDENTES

III.8.1. Antecedentes internacionales

Baudin y col. (2021) realizaron una revisión sistemática y metaanálisis (8). Los resultados del metaanálisis mencionan que la exposición a RI por parte de los POERI aumenta la presencia de AC en 3.19 veces IC 95%=1.46-4.93, indicando que la exposición a RI aumenta la inestabilidad genética en los trabajadores hospitalarios expuestos a dosis bajas crónicas de RI, que podría poner en riesgo la salud (8). También reportan la presencia de mayor número de micronúcleos (MN) en los PEORI comparado con el grupo control, MN=1.4, IC 95%=0.97-1.86; al analizar los puentes nucleoplasmáticos (NPB) se obtuvieron resultados NPB=2.32, IC=1.10–3.54; al realizar el *forest plot* sobre los estudios sobre ICH se reporta un aumento de 4.89 (IC 95%=2.76–7.02) veces más la presencia de intercambios entre las cromátidas en los POERI en relación con el grupo control, se llegó a la conclusión de que algunas técnicas citogenéticas como las AC e ICH pueden presentar prospectos de análisis aplicados a POERI (8).

Małachowska y col. (2019) realizaron una revisión sistemática donde exponen que es posible utilizar los miRNAs como biomarcadores de fácil acceso para medir la exposición a RI, con la finalidad de identificar miRNAs candidatos que brinden información sobre la exposición a RI obteniendo un total de 30 artículos sobre 131 miRNAs, de los cuales solo se incluyeron 112, observando que solo 28 miRNAs mostraron un patrón de expresión alterado, siendo el miR-150

el que mostró una regulación a la baja y miR-34a mostró la mayor sobreexpresión con un *Fold Change (FG)*=1.67, 95% IC 1.40-2.01, también se aplicó un metaanálisis con regresión donde resultó que 7 miRNAs pueden servir para hacer estimaciones dosimétricas (17). Concluyendo que los microRNAs circulantes pueden orientar sobre los efectos que tiene la radiación sobre un organismo (17).

Jia y col. (2022) mencionan la necesidad de encontrar y validar biomarcadores de respuesta a exposición a RI para poder estimar las dosis recibidas en distintos campos como el médico e industrial (110). Dichos resultados demostraron que ciertos miRNAs estaban relacionados con la exposición de la RI entre los cuales destaca miR-34a reportado en suero sanguíneo humano como sobreexpresado en personas expuesta a RI, indicando una estimación dosimétrica, al igual que se encontró el mismo miRNA regulado al alta en plasma sanguíneo de ratón irradiado, también indicando una estimación de la dosis recibida (110). Demostrando que existen miRNAs que pudieran explicar la exposición a RI, sin embargo aún es necesario la identificación de miRNAs específicos y con una sensibilidad a esta condición (110).

III.8.2. Antecedentes nacionales

Sánchez y col. (2021) realizaron una revisión sistemática de un compilado de resultados sobre el daño al DNA inducido por pesticidas y la identificación de biomarcadores publicados en distintas bases de datos (18). Identificando AC, MN, ICH y biomarcadores moleculares relacionados con estrés oxidativo y el patrón de expresión de miRNAs para monitoreo de trabajadores expuestos a plaguicidas (18). Dilucidando que alteraciones citogenéticas son de utilidad en el monitoreo de la salud de trabajadores expuesto a pesticidas y los miRNAs pueden

funcionar como biomarcadores, sin embargo, es necesario la identificación de un patrón de expresión de miRNAs en relación a la exposición ante agentes genotóxicos (18).

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La radiación ionizante es la emisión, propagación y transferencia de energía en forma de ondas electromagnéticas que cuenta con la capacidad de ionizar los elementos de la tabla periódica. Este tipo de energía es catalogada como un agente genotóxico presentado por la radiación ionizante debido a que puede llegar a alterar las moléculas suspendidas en el citosol, así como dañar la estructura del DNA generando rupturas en sus cadenas que puede desencadenar procesos patológicos.

El uso de la radiación ionizante en el campo médico es ampliamente utilizado en distintos servicios como el radiodiagnóstico, medicina nuclear y radioterapia; que, si bien, representa una ventaja en el ámbito, también plasma un riesgo para el personal ocupacionalmente expuesto a radiación ionizante (POERI) del área de la salud que se encarga de aplicar y manipular estas fuentes de energía incluso si portan de manera adecuada el equipo de protección personal.

El gobierno mexicano estipula en la NOM-026-NUCL-2011 que el POERI debe evaluarse de manera anual considerando su estatus de salud mediante una química sanguínea y una biometría hemática, sin embargo, se infiere que se requiere de un escrutinio estricto que permita constatar los efectos de la radiación ionizante.

Existe evidencia a nivel mundial que reportan los posibles daños que puede presentar el POERI, entre ellos alteraciones bioquímicas y hematológicas, al igual que cambios en el perfil citogenético como la cantidad de intercambio de cromátides hermanas como resultado del sistema de reparación del DNA o incluso diferencias en el patrón de expresión de ciertas moléculas como los microRNAs, específicamente miR-34a-5p conocido como un miRNA

supresor de tumores debido a su papel en la regulación del ciclo celular, lo que conduce a la pregunta de investigación:

¿Existe asociación entre la cantidad de intercambio de cromátides hermanas y la expresión de miR-34a-5p en personal ocupacionalmente expuesto a radiaciones ionizantes?

V. JUSTIFICACIÓN

La radiación ionizante (RI) es un tipo de energía parte del espectro electromagnético, cuenta con distintos tipos de RI los cuales son utilizados en el campo de la medicina como técnicas de diagnóstico imagenológico y opción de tratamiento para algunas patologías, por lo que su uso ha impulsado la mejora del bienestar de los pacientes, no obstante, los trabajadores hospitalarios (POERI) que realizan dichos procedimientos son expuesto a bajas dosis de RI de manera crónica lo que puede llegar a afectar su salud.

En la actualidad existen organismos internacionales encargados de salvaguardar la salud del POERI regulando las dosis límite anuales a las que pueden ser expuestos, así como la aplicación de un monitoreo médico que incluye el análisis de parámetros hematológicos. Sin embargo, presentan la desventaja que no permite evidenciar cambios en el perfil citogenético y la relación de expresión de moléculas en respuesta a la exposición a RI.

Se han reportado algunos cambios citogenéticos y moleculares asociados a la exposición a RI, sin embargo, existe información limitada en cuanto al uso de estos parámetros en conjunto como biomarcadores de daño al DNA en POERI.

Con la presente investigación se pretende asociar tanto los biomarcadores citogenéticos como los moleculares relacionados al daño al DNA inducidos por los RI en los linfocitos de POERI y con los resultados puede llegar a ofrecer un análisis más exhaustivo de la salud de POERI, lo que permitiría diseñar una estrategia preventiva mediante la actualización de los protocolos de seguimiento y disminución de carga de trabajo.

VI. HIPÓTESIS

Hipótesis alterna: Existe asociación entre la cantidad de intercambio de cromátides hermanas y la expresión de miR-34a-5p en personal ocupacionalmente expuesto a radiación ionizante.

Hipótesis nula: No existe asociación entre la cantidad de intercambio de cromátides hermanas y la expresión de miR-34a-5p en personal ocupacionalmente expuesto a radiación ionizante.

VII. OBJETIVOS

VII.1. Objetivo general

Determinar asociación entre el intercambio de cromátides hermanas y la expresión de miR-34a-5p en personal ocupacionalmente expuesto a radiación ionizante.

VII.2. Objetivos específicos

VII.2.1. Analizar la cantidad de Intercambio de Cromátides Hermanas en linfocitos en ambos grupos de estudio.

VII.2.2. Cuantificar la expresión de miR-34a-5p en suero sanguíneo de ambos grupos de estudio.

VII.2.3. Determinar asociación entre el Intercambio de Cromátides Hermanas y la expresión de miR-34a-5p.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

VIII.1. Consideraciones éticas

El proyecto fue sometido a evaluación por parte del Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina parte de la Universidad Autónoma de Sinaloa (CEI-FM UAS) obteniendo el registro SE-2024-014.

Las muestras se obtuvieron de individuos voluntarios que anterior a la toma de muestra fueron informados sobre su papel de participación en la investigación y firmado el consentimiento informado, este elaborado de acuerdo con la declaración de Helsinki (ANEXO 1). En conjunto con la elaboración de un historial laboral y clínico, en el cual se recopilaban datos de hábitos de vida como el consumo de alcohol y tabaco, así como la presencia de enfermedades crónico-degenerativas (ANEXO 2).

VIII.2. Tipo de estudio

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional.

VIII.3. Población de estudio

24 individuos catalogados como Personal Ocupacionalmente Expuesto a Radiación Ionizante (POERI) en hospitales activos laboralmente originarios del estado de Sinaloa

24 individuos que no son considerados POERI originarios del estado de Sinaloa pareados por edad y sexo.

VIII.4. Criterios de selección

VIII.4.1. Criterios de inclusión

Grupo POERI: Individuos mayores de edad considerados POERI, ambos sexos, no emparentados, originarios del estado de Sinaloa y que accedieron a participar mediante la firma de consentimiento informado.

Grupo Control (CTRL): Individuos mayores de edad no considerados POERI, ambos sexos, no emparentados, originarios del estado de Sinaloa que accedieron a participar mediante la firma de consentimiento informado.

VIII.4.2. Criterios de exclusión

Grupo POERI: Individuos POERI que hayan sido sometidos a procedimientos médicos que requieran RI en los últimos 12 meses.

Grupo Control (CTRL): Individuos no POERI que hayan sido sometidos a procedimientos médicos que requieran RI en los últimos 12 meses.

Casos de individuos de cualquier grupo que no se contó con historia clínica y/o laboral completa.

Muestras de POERI y/o del grupo control en los que no se obtuvo cantidad de muestra sanguínea suficiente para llevar a cabo los análisis o en los que no se obtuvieron resultados confiables.

Individuos de otro estado o país.

VIII.5. Diseño experimental

VIII.5.1. Recolección de muestras

VIII.5.1.1. Muestra sanguínea

Se solicitó un ayuno mínimo de 8 horas para realizar la toma de muestra sanguínea mediante punción venosa. Se recolectó un total de 5 tubos al vacío, conformado por 2 tubos lilas con EDTA, 2 tubos amarillos sin aditivos con gel separador SST para la obtención de suero para la cuantificación de miR-34a-5p y 1 tubo con heparina sódica para realizar los análisis citogenéticos correspondientes. La creación del banco de muestras se instauró con la separación de los componentes sanguíneos que fueron almacenados a -80°C .

Todos los análisis clínicos se realizaron en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital General de Culiacán “Dr. Bernardo J. Gastélum”, utilizando los valores de referencia estandarizados en la institución. Los valores analizados en la química sanguínea son: glucosa, urea, nitrógeno ureico, creatinina, ácido úrico, colesterol y triglicéridos; en la biometría hemática completa se evaluaron eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HbCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (HbCM), plaquetas, amplitud de la Distribución Eritrocitaria (RDW-CV), volumen plaquetario medio, leucocitos totales, segmentados, linfocitos, monocitos y eosinófilos.

VIII.5.2. Análisis citogenético

VIII.5.2.1. Intercambio de Cromátidas Hermanas (ICH)

Para visualizar los ICH se realizó un cultivo celular de sangre periférica de cada participante obteniendo linfocitos donde una de las cromátides fue marcada con BrdU, el ciclo celular de las células se detuvo en metafase al agregarle colchicina, posteriormente con KCl se aumentó el volumen celular y se aplicaron lavados para retirar restos celulares, permitiendo realizar la extensión en laminillas de las metafases que se incubaron en la oscuridad y posteriormente se aplicó una tinción diferencial que permite revelar los ICH con el colorante Hoechst 33258 y exposición a luz ultravioleta, luego se tiñeron con Giemsa, terminando el proceso con la visualización de las laminillas en el microscopio óptico contando 20 células por paciente.

VIII.5.3. Análisis molecular

VIII.5.3.1. Extracción de microRNAs en suero

Se usó el tubo amarillo con gel separador SST para la separación de suero sanguíneo y de esta muestra se tomaron 200 μ L para realizar la purificación de microRNAs utilizando el Kit avanzado de aislamiento de *microRNA miRNeasy Serum/Plasma (Qiagen)* de acuerdo con las indicaciones del fabricante, el pellet de RNA fue resuspendido en 20 μ L de agua libre de RNAsas y posteriormente se almacenó a -80 μ L.

VIII.5.3.2. Cuantificación de miR-34a

Retrotranscripción, síntesis de *cDNA*

Se utilizó un termociclador para la reacción RT-PCR empleando el Kit de síntesis de cDNA (del inglés *complementary DNA*) de *miARN TaqMan™ Advanced (TaqMan)* de acuerdo con las instrucciones del producto, comenzando con la reacción de cola poli-A, seguido por la reacción de ligadura del adaptador, luego se realizó la reacción de transcripción inversa, finalizando con la reacción de amplificación de miRNAs (miR-Amp), cada paso con las condiciones indicadas por la empresa fabricante (Tabla 2).

Tabla 2. Condiciones de RT-PCR

En la tabla se muestran las condiciones en las que se llevaron a cabo las RT-PCR de este estudio de acuerdo con la secuencia de trabajo realizado. Modificado de ThermoFisher (2023) (125).

Reacción RT-PCR			
Reacción de cola poli-A			1X
Buffer 10X Poly(A)			0.5 µL
ATP			0.5 µL
Enzima Poly(A)			0.3 µL
Agua libre de RNasa			1.7 µL
Volumen total de Reacción			3.0 µL
Paso	Temperatura	Tiempo	
Poliadenilación	37°C	45 min	
Paro de reacción	65°C	10 min	
Hold	4°C	Indefinido	
Reacción de Ligadura del Adaptador			1X
5X Buffer DNA Ligasa			3 µL
50% PEG 8000			4.5 µL
25X Adaptador de Ligación			0.6 µL
RNA Ligasa			1.5 µL
Agua libre de RNasa			0.4 µL
Volumen total de Reacción			10 µL
Paso	Temperatura	Tiempo	
Ligación	16°C	60 min	
Hold	4°C	Indefinido	
Reacción de Transcripción reversa			1X
5X Buffer RT			6 µL
Mix dNTP			1.2 µL
20X Primer Universal RT			1.5 µL
10X Mix Enzima RT			3 µL
Agua libre de RNasa			3.3 µL
Volumen total de Reacción			15 µL
Paso	Temperatura	Tiempo	
Transcripción reversa	42°C	15 min	
Paro de reacción	85°C	5 min	
Hold	4°C	Indefinido	
Reacción miR-Amp			1X
2X Master Mix miR-Amp			25 µL
20X Mix Primer miR-Amp			2.5 µL
Agua libre de RNasa			17.5 µL
Volumen total de Reacción			45 µL
Paso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Activación enzimática	95°C	5 min	1
Desnaturalización	95°C	3 s	14
Alineación/Extensión	60°C	30 s	
Paro de reacción	99°C	10 min	1
Hold	4°C	Indefinido	Indefinido

Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (*qPCR*)

Una vez que se obtuvo *cDNA* este fue sometido a una *qPCR* (Tabla 3) utilizando el *Master Mix PrimeTime™ One-Step RT-qPCR (IDT)*. Se cuantificó el miR-34a-5p con la sonda específica para el miRNA y se utilizó como miRNA endógeno miR-16-5P de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Cada reacción se realizó por duplicado.

Para realizar la cuantificación de expresión relativa se promediaron los ciclos umbral (*Ct*, del inglés *cycle threshold*) del análisis duplicado de cada muestra, posteriormente se calculó el ΔCt y finalmente se calculó el $2^{\Delta\Delta Ct}$ de cada muestra; el $2^{\Delta\Delta Ct}$ es un método en el cual se supone que las muestras analizadas tuvieron una eficiencia de amplificación uniforme y permite la cuantificación de expresión relativa de DNA o RNA, para aplicarlo se evalúa la expresión entre un miRNA de interés en comparación de un miRNA endógeno como referencia (126). Se comienza el cálculo utilizando el *Ct* de las muestras analizadas, es decir, el número de ciclos necesarios para que la fluorescencia emitida se detecte en el termociclador, posteriormente se obtiene el ΔCt calculando la diferencia de *Ct* entre miRNA de interés y miRNA de referencia, luego se calcula el $\Delta\Delta Ct$ con la diferencia de ΔCt entre miRNA de interés y miRNA de referencia, por último, se calcula el *Fold change* ($2^{\Delta\Delta Ct}$) (126).

Tabla 3. Condiciones qPCR

En la tabla se establecen las condiciones utilizadas para las qPCR. Modificado de ThermoFisher (2023) (125).

Reacción qPCR			
2X Master Mix			5 μ L
20X Ensayo miRNA			0.5 μ L
Agua libre de RNasa			2 μ L
Volumen total de Reacción			7.5 μL
Paso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Activación enzimática	95°C	3 min	1 ciclo
Desnaturalización	95°C	1 s	40 ciclos
Alineación/Extensión	60°C	20 s	

VIII.5.6. Análisis estadístico

Se aplicó prueba de normalidad mediante el estadístico Shapiro-Wilk para analizar la distribución de los datos, en las variables que el resultado fue no paramétrico se utilizó el análisis de diferencia de medianas mediante el estadístico de Wilcoxon y en caso de presentarse una distribución paramétrica o normal se utilizó la prueba *t* de Student para muestras independientes analizando la diferencia de medias. Se analizó mediante la prueba Exacta de Fisher las variables de consumo de alcohol y tabaco respecto a la cantidad de ICH.

Para analizar la correlación entre las variables bioquímicas, hematológicas, citogenéticas y moleculares, se aplicó una prueba de normalidad, en caso de resultar normal se utilizó correlación de Pearson y de ser no normal se aplicó la correlación de Spearman.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software *GraphPad Prism versión 8.0.1*, donde un valor de $p \leq 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

IX. RESULTADOS

IX.1 Población de estudio

Con la finalidad de evaluar el daño genético en el Personal Ocupacionalmente Expuesto a Radiaciones Ionizantes mediante el análisis de la cantidad de Intercambio de Cromátides Hermanas en linfocitos y la expresión de miR-34a-5p en suero sanguíneo. Se contó con la inclusión total de 48 individuos sinaloenses divididos en dos grupos: 24 individuos catalogados como POERI de hospitales activos laboralmente y 24 individuos como grupo control (CTRL).

De los 24 sujetos de cada grupo, 9 fueron del sexo femenino (F) y 15 del sexo masculino (M); el rango de edad presentado fue desde 24 años a 61 años, presentando como media en el grupo POERI 37.08 ± 8.9 años y en el grupo control la media fue de 36.75 ± 9.1 años, cuyo análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0.057$) (Tabla 4).

De igual manera, se recolectaron datos sobre el consumo de alcohol y tabaco; en el caso del consumo de tabaco se le consideró como “estatus de fumador” a todo aquel individuo que reportó fumar 1 cigarrillo o más al día, en el grupo POERI 4 sujetos (16.6%) reportan fumar mientras que en el grupo CTRL solo 2 (8.8%), mientras que 20 (83.3%) POERI no fuman, al igual que 22 (91.6%) individuos (Tabla 4). En cuanto al consumo de alcohol ningún participante reportó presentar alcoholismo, sin embargo, se le consideró como “consumidor de alcohol” a los sujetos que mencionaron consumirlo de manera ocasional, en el POERI 18 individuos (75%) y 10 (41.6) CTRL aluden consumir alcohol, por otro lado, 6 (25%) de POERI y 14 (58.3%) CTRL no consumen (Tabla 4).

En el caso de las enfermedades que padecen los integrantes de este estudio, se encontró que un POERI padecía de diabetes mellitus tipo 2 (DMt2) e hipertensión arterial (HA) y un

CTRL mencionó padecer de enfermedad renal crónica (ERC) resultado de un accidente mecánico (Tabla 4).

En cuanto a la práctica de ejercicio se reportó que en el grupo CTRL mayor cantidad de individuos lo realiza en comparación con el grupo POERI (Tabla 4).

Tabla 4. Características de la población.

En la tabla se resumen las características de la población de estudio.

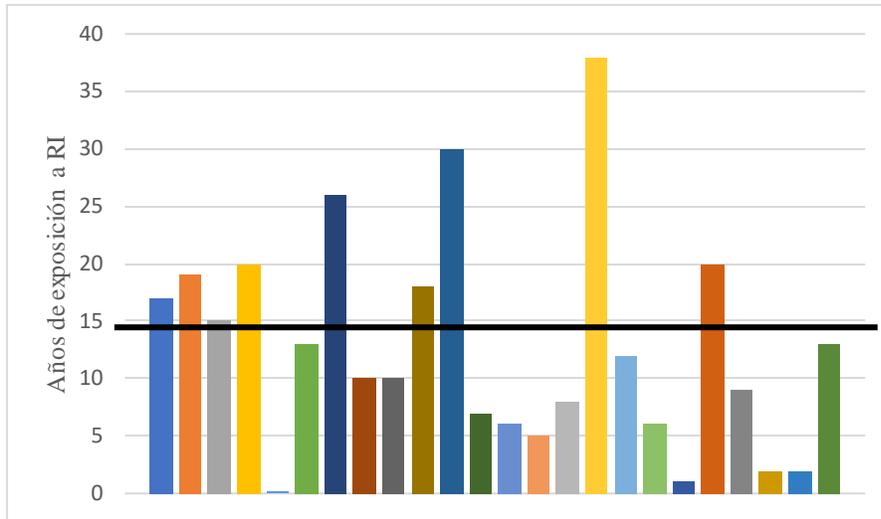
Característica de población		Población	
		POERI	CTRL
Número de individuos		24	24
Sexo (n, %)	F	9 (37.5%)	9 (37.5%)
	M	15 (62.5%)	15 (62.5%)
Edad (años) Media		24-61 M=37.08±8.9	24-61 M=36.75±9.1
Tiempo expuesto a RI (años)		0.8-38 años M=12.8±9.4	-
Estatus de fumador (n, %)	Fumador	4 (16.6%)	2 (8.3%)
	No fumador	20 (83.3% %)	22 (91.6% %)
Estatus de consumo de alcohol (n, %)	Consumo	18 (75%)	10 (41.6%)
	No consumo	6 (25%)	14 (58.3%)
Enfermedades crónico-degenerativas (n)		1 (DMt2 e HA)	1 (ERC)
Realiza Ejercicio (n, %)		11 (45.8%) Si 13 (54.2%) No	12 (50%) 12 (50%)
División por sexo de individuos que realizan ejercicio		6 M 5 F	8 M 4 F
Horas de ejercicio a la semana en conjunto		45.16 horas	50.33 horas

IX.2 Historial laboral del grupo POERI

Se incluyó la participación de POERI del área de radiodiagnóstico y un grupo control; el POERI fue procedente de distintas instituciones de salud públicas y privadas; 8 de ellos laboran en el Hospital General de Culiacán, 10 en el Hospital Civil de Culiacán, 2 en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 1 en el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) y 3 son del sector privado; por otro lado el grupo CTRL contó con la participación de población general no expuesta a RI.

Se registró la inclusión de 12 Radiólogos, de 5 Residentes de Imagenología, 6 Médicos Radiólogos y 1 Traumatólogo. El POERI presentó heterogeneidad en cuanto al tiempo de exposición a este tipo de energía, contando con un rango desde 1 mes hasta 38 años, con una media de 13.48 ± 9.90 años, donde 12 individuos han estado expuestos durante hasta 10 años y 12 sujetos han sido expuestos a RI por más de 10 años (Figura 9).

Figura 9. Años de exposición a RI por parte del POERI.



Se expone de manera individual, una barra por participante, la cantidad de tiempo en años expuesto a RI que reporta el POERI, que presenta un rango desde 1 mes hasta 38 años con una media de 12.8 ± 9.4 años (línea horizontal en color negro).

IX.3 Características de la población

IX.3.1 Características bioquímicas de la población

Dado que se contó con la información de los análisis clínicos que se evalúan de manera protocolaria a los POERI, se realizó un análisis de los mismos y su comparación con los CTRL y a su vez, con los resultados de ICH y la expresión de miR-34a-5p como análisis complementarios a los objetivos de la investigación, por lo que se aplicó prueba de normalidad a los datos para conocer la distribución de datos y posteriormente se seleccionó la prueba adecuada según sea el caso; las medias de los parámetros se encuentran dentro de los valores de referencia del laboratorio, a excepción de la media de triglicéridos del grupo POERI que se encuentra por encima del límite de referencia reportado en el laboratorio (Tabla 5).

Los resultados del análisis estadístico no mostraron diferencia estadísticamente significativa en los parámetros de glucosa, urea, nitrógeno úrico, ácido úrico, colesterol y triglicéridos; por otro lado, la variable de creatinina presentó una media en el grupo POERI de 0.87 ± 0.17 y el grupo CTRL una media de 0.95 ± 0.18 , reflejando una diferencia estadísticamente significativa entre grupos, valor de $p=0.014$, siendo el grupo CTRL el que reportó una media mayor comparado con el grupo POERI (Tabla 5).

Tabla 5. Química sanguínea de 6 elementos de ambos grupos de estudio.

VARIABLE/ POBLACIÓN	Glucosa	Urea	Nitrógeno Ureico	Creatinina	Ácido Úrico	Colesterol	Triglicéridos
CTRL	84.26 ± 10.17	29.66 ± 9.28	13.84 ± 4.16	0.95 ± 0.18	4.69 ± 1.62	184.2 ± 31.6	140.3 ± 84.07
POERI	91.7 ± 15.51	32 ± 10.21	14.94 ± 4.60	0.87 ± 0.17	5.22 ± 1.13	191.0 ± 40.64	151.8 ± 108.9 [^]
P	0.25 (NS ^φ)	0.18 (NS ^φ)	0.34 (NS ^φ)	0.014[#]	0.40 (NS [#])	0.89 (NS [#])	0.96 (NS ^φ)

Los valores están representados como la media ± D. E. (desviación estándar)

[^]Valores fuera de rango de referencia

[#]t student

^φWilcoxon

Se presentan las medias o medianas, según sea el caso, de cada variable analizada en la química sanguínea de los grupos de estudio, es destacable que la media de triglicéridos en el grupo POERI está por encima del valor de referencia utilizado en el laboratorio de análisis clínicos, así como se muestra una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la creatinina, siendo el grupo CTRL el que resultó con una cuantificación mayor.

Método estadístico: t student y prueba de Wilcoxon.

Límites de referencia utilizados en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital General de Culiacán:

- Glucosa: 70.0 – 105.0 mg/dL
- Urea: 10.0- 55.0 mg/dL
- Nitrógeno ureico: 7.0 – 18.0 mg/dL
- Creatinina: 0.5 – 1.40 mg/dL
- Ácido úrico: 1.5 – 6.0 mg/dL
- Colesterol total: 150.0 – 200.0 mg/dL
- Triglicéridos: 30.0 – 150.0 mg/dL

Se realizó comparación de química sanguínea de acuerdo con el sexo y los resultados muestran que las medias de las variables se encuentran dentro de los límites de referencia, a excepción de los triglicéridos, donde ambos grupos de estudio se reportan por encima del límite; además se presentaron diferencias estadísticamente significativas únicamente en la variable de creatinina de los masculinos con una media de 0.9353 ± 0.13 en el grupo POERI y 1.069 ± 0.12 en el grupo CTRL, valor de $p=0.0082$ (Tabla 6).

Con respecto la comparación entre los femeninos de los grupos POERI y CTRL ninguna variable mostró diferencias significativas (resultados detallados en ANEXO 3).

Tabla 6. Química sanguínea de seis elementos de ambos grupos de estudio divididos por sexo. En la tabla se muestran los resultados de Masculinos

VARIABLE/ POBLACIÓN	Glucosa	Urea	Nitrógeno Ureico	Creatinina	Ácido Úrico	Colesterol	Triglicéridos
M CTRL	85.81 ± 8.79	30.18 ± 6.65	14.95 ± 4.54	1.06 ± 0.12	5.10 ± 1.19	195.8 ± 29.86	174.3 ± 88.48 [^]
M POERI	91.41 ± 10.54	35.43 ± 9.40	16.57 ± 4.47	0.93 ± 0.13	5.73 ± 0.73	190.5 ± 39.10	161.1 ± 104.7 [^]
<i>p</i>	0.20 (NS [#])	0.13 (NS ^φ)	0.33 (NS ^φ)	<u>0.008</u> [#]	0.10 (NS [#])	0.67 (NS [#])	0.63 (NS ^φ)

Los valores están representados como la media ± D. E. (desviación estándar)

[^]Valores fuera de rango de referencia

[#]t student

^φWilcoxon

Se presentan las medias o medianas, según sea el caso, de cada variable analizada en la química sanguínea de participantes masculinos de ambos grupos de estudio, es destacable que la media de triglicéridos en ambos grupos se encuentra por encima del valor de referencia, así como se muestra una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la creatinina, siendo el grupo CTRL el que resultó con una cuantificación mayor.

Método estadístico: *t* student y prueba de Wilcoxon.

IX.3.1.1 Análisis de asociación de variables bioquímicas del POERI y años de exposición a RI

Se analizó la existencia de correlación entre los parámetros bioquímicos y los años de exposición a RI de manera laboral. Tomando en consideración a la totalidad de POERI y el tiempo de exposición al genotóxico mostró correlación positiva con los parámetros de urea ($r=0.435$, $p=0.03$), nitrógeno ureico ($r=0.432$, $p=0.03$), ácido úrico ($r=0.486$, $p=0.01$) y colesterol ($r=0.543$, $p=0.007$), mientras las variables de glucosa, creatinina y triglicéridos no evidenciaron correlación (Tabla 7).

Se evaluó la relación entre la edad del POERI con las variables bioquímicas, se identificó significancia estadística en los parámetros de ácido úrico ($r=0.529$, $p=0.0093$) y colesterol ($r=0.513$, $p=0.01$) (Tabla 8).

Tabla 7. Análisis de asociación entre los niveles de tiempo de exposición a RI y parámetros bioquímicos en el POERI.

Parámetro		Coefficiente de correlación	p
Tiempo de exposición a RI	Glucosa	0.386	0.06 (NS)
	Urea*	0.435	0.03*
	Nitrógeno ureico*	0.432	0.03*
	Creatinina	0.194	0.37 (NS)
	Ácido úrico*	0.486	0.01*
	Colesterol*	0.543	0.007*
	Triglicéridos	0.344	0.10 (NS)

Resultados concentrados de la correlación entre el tiempo de exposición a RI y los parámetros analizados en la química sanguínea, en negritas se encuentran los valores que mostraron correlación.

*:p<0.05

Método estadístico: Correlación de Pearson y correlación de Spearman

Tabla 8. Análisis de asociación entre la edad del POERI y parámetros bioquímicos.

Parámetro		Coefficiente de correlación	p
Edad del POERI	Glucosa	0.382	0.07 (NS)
	Urea	0.345	0.10 (NS)
	Nitrógeno ureico	0.341	0.11 (NS)
	Creatinina	0.240	0.26 (NS)
	Ácido úrico*	0.529	0.009*
	Colesterol*	0.513	0.01*
	Triglicéridos	0.402	0.056 (NS)

Resultados concentrados de la correlación de la edad del POERI y los parámetros analizados en la química sanguínea, en negritas se encuentran los valores que mostraron correlación.

*:p<0.05

Método estadístico: Correlación de Pearson y correlación de Spearman

IX.3.2 Características hematológicas de la población

Dentro de los parámetros que se analizan dentro de la Biometría hemática ninguna variable presentó una diferencia estadísticamente significativa; se observó que las medias o medianas, según sea el caso, están dentro de los límites de referencia, a excepción del volumen medio de plaquetas en ambos grupos (POERI y CTRL) donde es posible puntualizar que el resultado está por encima del límite de referencia estandarizado en el laboratorio (Tabla 9).

Al analizar los resultados de las biometrías hemáticas divididas por sexo tanto en POERI y CTRL no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el caso de los Masculinos; sin embargo, en volumen medio de plaquetas en POERI y CTRL está por encima de los valores de referencia utilizados en el laboratorio (ANEXO 4) al igual que no se presentó diferencia considerable en las variables analizadas de los participantes femeninos (ANEXO 5)

Valores de corte:

- Eritrocitos $4.2-6.3 \times 10^6/\mu\text{L}$
- Hemoglobina 12-18 g/dL
- Hematocrito 37-51 %
- VCM 80-97 fL
- HbCM 26-32 pg
- Conc. HbCM 31-36 g/dL
- Plaquetas $150-450 \times 10^3$
- Índice de dist. Eritrocito 13-16 %
- Vol. Med. Plaquetas 9.0-10.7 fL
- Leucocitos totales $5-10 \times 10^6/\mu\text{L}$
- Segmentados 1.5-7 μL
- Linfocitos 1-4.2 μL
- Monocitos 0.1-0.8 μL
- Eosinófilos 0-0.7 μL
- Basófilos 0-0.20 μL

Tabla 9. Características Hematológicas de ambos grupos de estudio.

VARIABLE/ POBLACIÓN	Eritrocitos	Hemoglobina	Hematocrito	VCM	HbCM	Conc. HbCM	Plaquetas
CTRL	4.74 ± 0.47	13.99 ± 1.52	42.52 ± 4.13	89.86 ± 4.53	29.71 ± 1.83	33.03 ± 0.85	266.3 ± 61.3
POERI	4.8 ± 0.46	14.73 ± 1.38	44.4 ± 4.10	91.08 ± 3.16	30.24 ± 1.42	33.19 ± 0.7	247.9 ± 37.78
P	0.18 [#] (NS)	0.06 [#] (NS)	0.07 ^ϕ (NS)	0.47 [#] (NS)	0.61 ^ϕ (NS)	0.79 [#] (NS)	0.19 ^ϕ (NS)

VARIABLE/ POBLACIÓN	Índice de dist. eritrocito	Vol. Med. plaquetas	Leucocitos total	Leucocitos diferenciales				
				Segmentados	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos
CTRL	13.08 ± 1.03	11.06 ± 0.86 [^]	6.38 ± 1.5	3.63 ± 1.08	2.13 ± 0.55	0.37 ± 0.08	0.23 ± 0.21	0.017 ± 0.008
POERI	12.81 ± 0.82	11.08 ± 0.93 [^]	6.48 ± 1.57	3.64 ± 1.25	2.21 ± 0.5	0.38 ± 0.09	0.23 ± 0.22	0.012 ± 0.009
P	0.45 ^ϕ (NS)	0.94 [#] (NS)	0.70 [#] (NS)	0.83 [#] (NS)	0.70 ^ϕ (NS)	0.75 ^ϕ (NS)	0.90 ^ϕ (NS)	0.07 ^ϕ (NS)

Los valores están representados como la media ± D. E. (desviación estándar)

[^]Valores fuera de rango de referencia

[#]t student

^ϕWilcoxon

Se presentan las medias o medianas, según sea el caso, de cada variable analizada en la biometría hemática de los grupos de estudio, es destacable que la media de volumen medio de plaquetas en ambos grupos está por encima del valor de referencia utilizado en el laboratorio de análisis clínicos.

Método estadístico: t student y prueba de Wilcoxon.

IX.3.2.1 Análisis de asociación de características hematológicas del POERI

El análisis de correlación de las características hematológicas del POERI no reveló diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de exposición a RI y las variables de la biometría hemática (ANEXO 6).

Ninguna relación entre la edad del POERI y las variables hematológicas fueron encontradas. (ANEXO 7)

IX.4 Análisis citogenético de daño al DNA

IX.4.1 Estandarización de la técnica Intercambio de Cromátides Hermanas

Anterior al muestreo se llevó a cabo la estandarización de la técnica “Intercambio de Cromátides Hermanas” debido a que no se encontraba dentro de las metodologías aplicadas en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa (ANEXO 8).

Se ejecutaron múltiples variaciones en la composición de los medios de cultivo, múltiples tiempos de adición de BrdU al medio, modificaciones en el método de extensión y cambios en las condiciones de los colorante Giemsa y Hoechst 33258 para lograr la obtención de metafases con tinción y extensión adecuada para análisis (ANEXO 8).

Se llegó a las condiciones óptimas para la obtención de muestras de calidad analizable en las que se pudieran visualizar los 46 cromosomas separados y fuera distinguible la tinción diferencial entre las cromátides (Figura 10). Ejemplos de metafases de POERI (Figura 11 A), B), C) y D) y ejemplos de metafases de CTRL (Figura 12 A), B), C) y D).

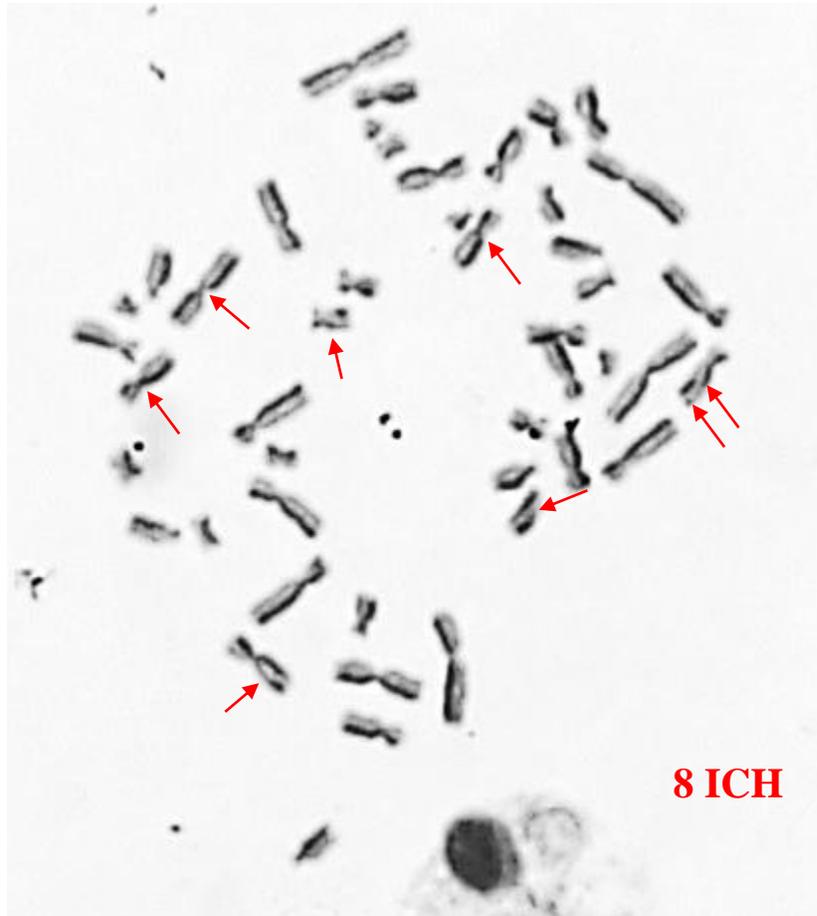


Figura 10. Metafase con tinción diferencial.

Se expone una metafase humana donde es posible el conteo de los 46 cromosomas con tinción diferencial entre las cromátides, permitiendo así un conteo de los intercambios efectuados, resultando en 8 ICH señalados con flechas rojas

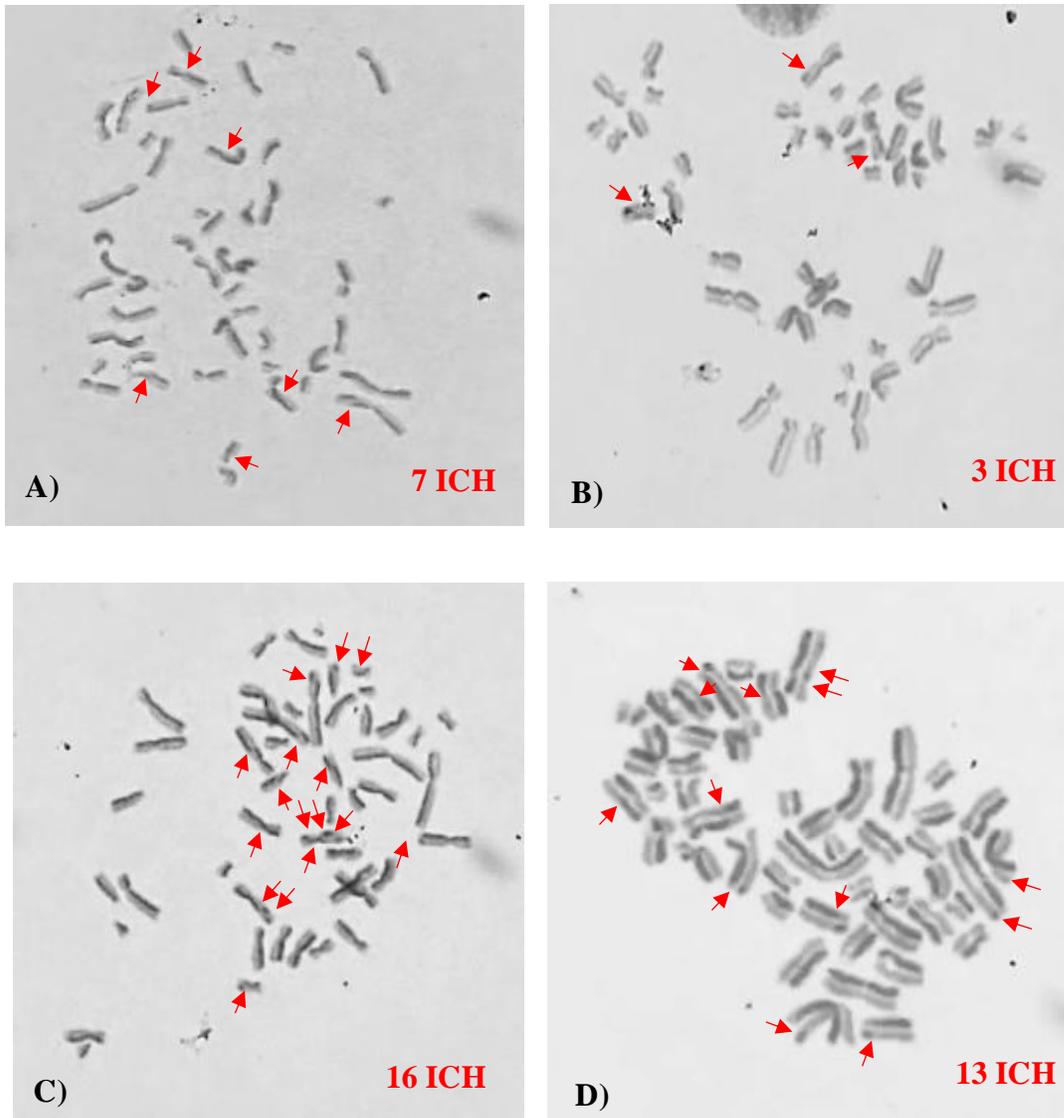


Figura 11. Ejemplos de metafases de POERI vista al microscopio.

Se muestran ejemplos de metafases del POERI con diferentes cantidades de ICH, las flechas rojas indican ICH y en la esquina inferior en color rojo el total de ICH.

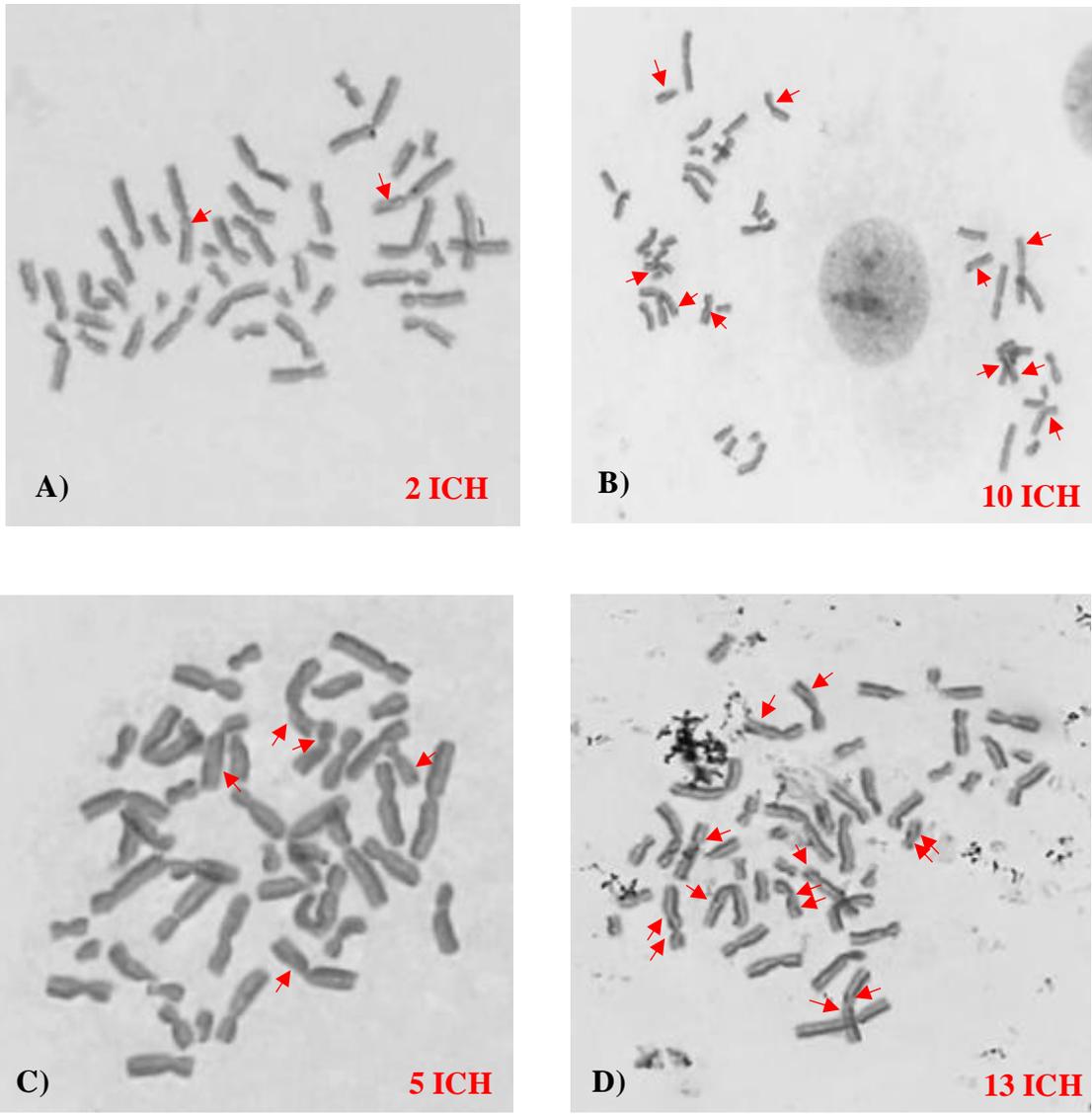


Figura 12. Ejemplos de metafases de CTRL vista al microscopio.

Se muestran ejemplos de metafases del CTRL con diferentes cantidades de ICH, las flechas rojas indican ICH y en la esquina inferior en color rojo el total de ICH.

IX.4.2 Medias de Intercambio de Cromátides Hermanas en ambos grupos

Se analizaron 20 metafases de buena calidad por participante, *a posteriori* se obtuvo la media de ICH por cada sujeto (POERI, Figura 13 y ANEXO 9); CTRL, Figura 14 y ANEXO 10).

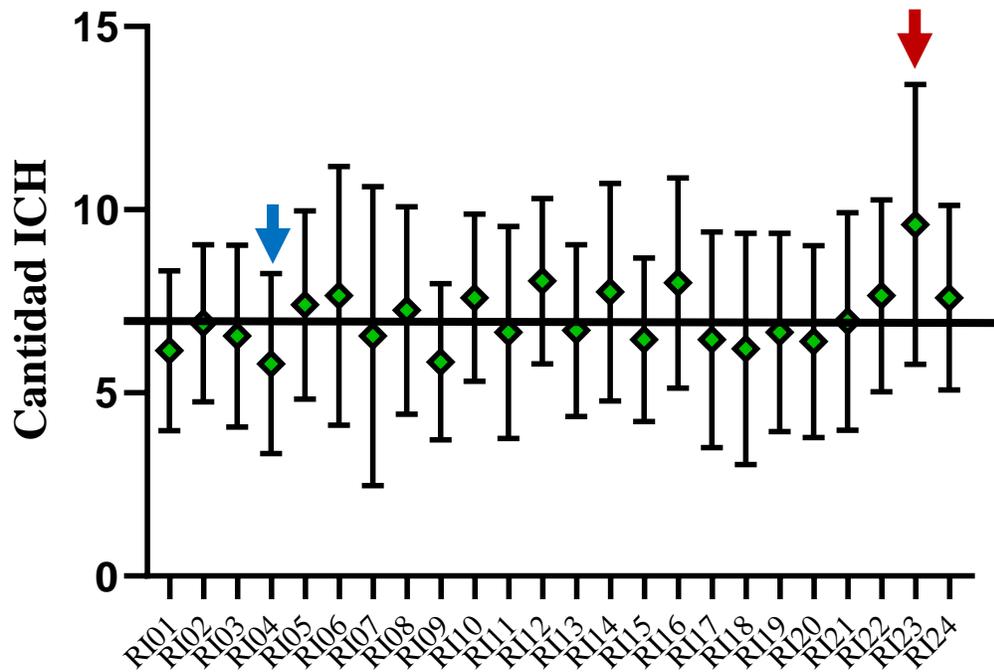


Figura 13. Cantidad de ICH por participante POERI.

Se plasma el código de identificación de cada participante POERI (presentados como “RI”) en el eje X y la respectiva desviación estándar de ICH (barras negras) con la media destaca en cada caso (figuras en color verde) en el eje Y. Es notable que el POERI con el código RI23 mostró la mayor cantidad de ICH por metafase analizada con una media de 9.60 (indicado con la flecha en color rojo), mientras que el POERI RI04 presentó la menor media de ICH resultando en 5.80 (indicado con la flecha color azul) Media marcada con la línea horizontal color negro.

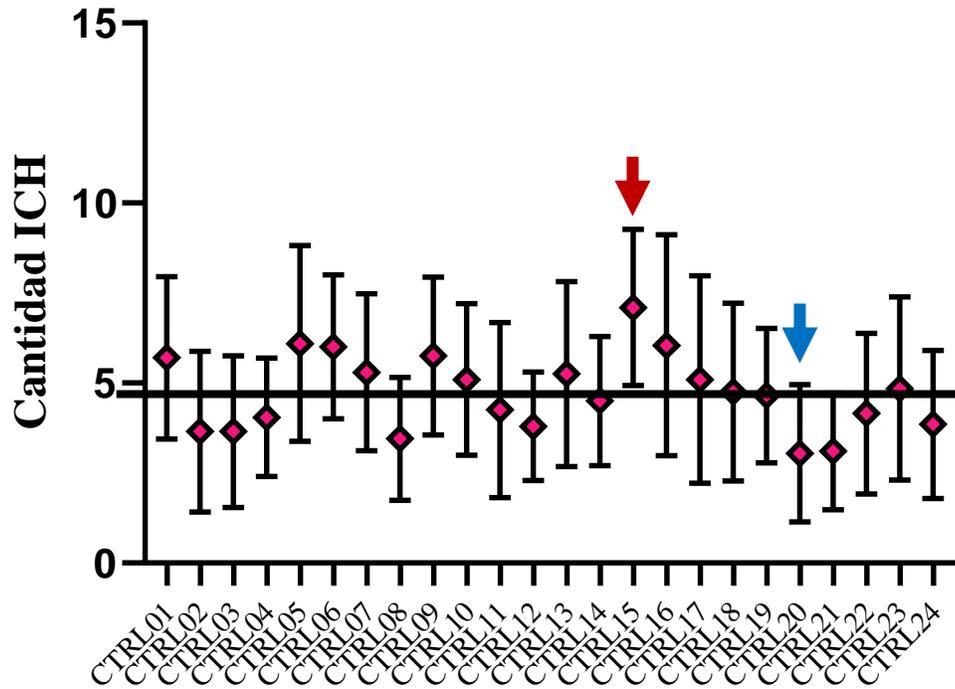


Figura 14. Cantidad de ICH por participante CTRL.

Se representa el código de identificación de cada participante del grupo CTRL, etiquetados como “CTRL” en el eje X y su respectiva desviación estándar de ICH (barras negras) con la media destaca en cada caso (figuras en color rosa) en el eje Y. Es notable que el CTRL con el código CTRL15 mostró la media de 7.10 ICH por metafase analizada (indicado con la flecha en color rojo), mientras que el CTRL20 presentó la menor media de ICH resultando en 3.05 (indicado con la flecha color azul). Media representada con la línea negra horizontal.

IX.4.3 Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas entre los grupos de estudio

Al realizar la comparación entre el grupo POERI (media de 7.033 ± 0.860 ICH) y el grupo CTRL (media de 4.717 ± 1.061 ICH) se observó diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p=0.0001$ (Figura 15).

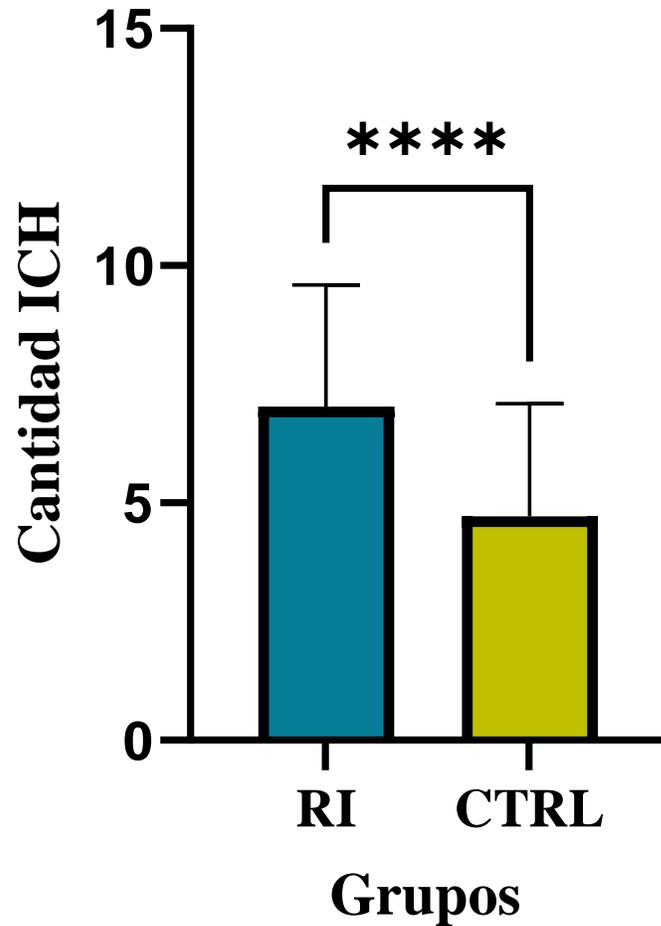


Figura 15. Análisis de ICH entre POERI Y CTRL.

Se expresa el análisis aplicado a las medias de ICH del grupo POERI, con una media de 7.033 ± 0.860 (en color azul) y del grupo CTRL con una media de 4.717 ± 1.061 (en color amarillo). En el eje X se presentan los dos grupos de la población de estudio y en el eje Y se presenta la cantidad de ICH. Valor de $p=0.0001$

*: $p \leq 0.05$

****: $p=0.001$

Método estadístico: *t* student

IX.4.4 Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas de ambos grupos divididos por sexo

El análisis entre ambos sexos de los POERI se observaron diferencias significativas con un valor de $p=0.04$ donde los M presentaron una media de 6.76 ± 0.70 y los F mostraron una media de 7.48 ± 0.94 (Figura 16A).

De la misma manera se realizó el estudio comparando los M (media de 4.43 ± 1.02) y F del grupo CTRL y no se encontraron diferencias significativas con un valor de $p=0.09$ (Figura 16B).

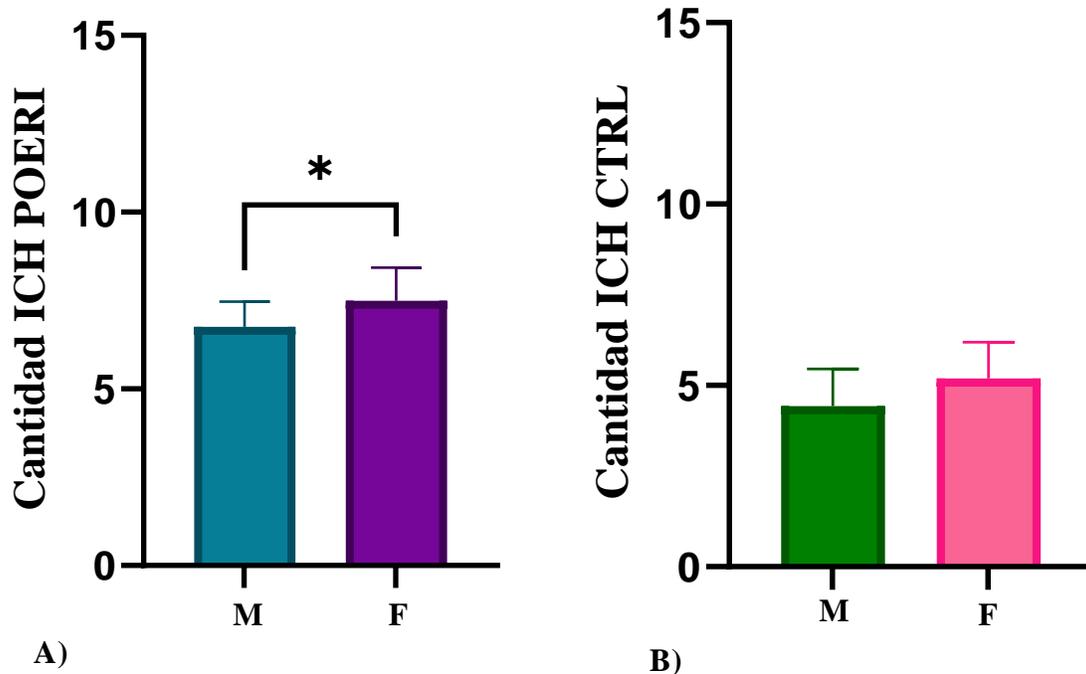


Figura 16. Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas comparando Masculinos vs Femeninos de ambos grupos.

A. Se grafica el resultado del análisis de ICH aplicado al POERI dividido por sexo, donde los Masculinos (M) presentan una media de 6.76 ± 0.70 (color azul) mientras que los Femeninos (F) una media de 7.48 ± 0.94 (color lila). Valor de $p=0.04$.

*: $p \leq 0.05$

B. Se expresa el análisis de ICH empleado en el CTRL divididos de acuerdo con el sexo, el grupo Femenino presenta una media de 5.18 ± 0.99 (color rosa) y el grupo Masculino una media de 4.43 ± 1.02 (color verde). Valor de $p=0.09$

*: $p \leq 0.05$

Método estadístico: *t* student

IX.4.5 Análisis de Intercambio de Cromátides Hermanas entre los grupos de estudio divididos por sexo

Se realizó una subdivisión de los sujetos de ambos grupos de acuerdo con el sexo: F y M.

En el caso del análisis de ICH de F POERI (media de 7.489 ± 0.941) en comparación con los F CTRL (media de 5.198 ± 0.999) se obtuvo una marcada diferencia estadísticamente significativa con valor de $p=0.0019$ (Figura 17A).

En el análisis de los M POERI (media de 6.760 ± 0.704) vs M CTRL (media de 4.433 ± 1.024) también se obtuvieron diferencias significativas muy marcadas con un valor de $p=0.0001$ (Figura 17B).

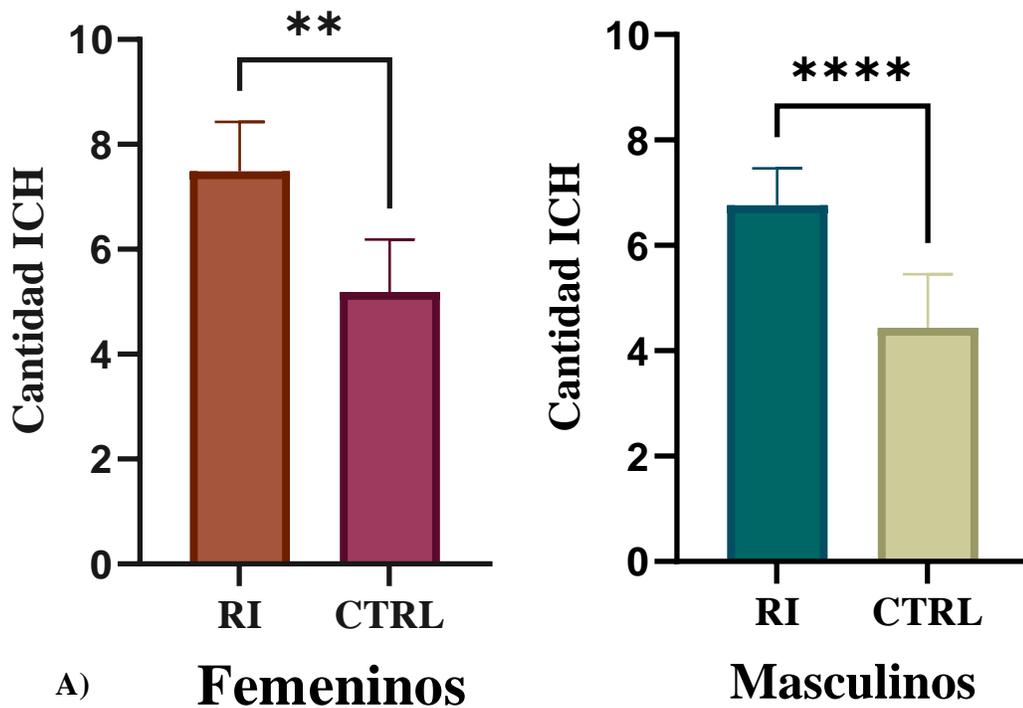


Figura 17. Comparación de ICH divididos por sexo.

A) Se presenta el análisis entre Femeninos POERI con la etiqueta “RI” (color rojo claro) *versus* Femeninos no expuestas a RI (color rosa). En el eje X se presentan los grupos de Femeninos y en el eje Y la cantidad de ICH. $p=0.0019$.

*: $p \leq 0.05$

****: $p = 0.001$

B) Se presenta el análisis entre Masculinos POERI con la etiqueta “RI” (color azul) *versus* Masculinos no expuestas a RI (color beige). En el eje X se presentan los grupos de Masculinos y en el eje Y la cantidad de ICH. $p=0.0001$.

*: $p \leq 0.05$

**: $p = 0.0019$

****: $p = 0.001$

Método estadístico: *t* student

IX.4.6 Análisis de relación de consumo de alcohol y tabaco con la cantidad de Intercambio de Cromátides Hermanas

Se evaluó el consumo de alcohol y tabaco en el grupo POERI con la cantidad de ICH.

Se aplicó una prueba exacta de Fisher en cuanto al consumo de alcohol, la cual no mostró resultado estadísticamente significativo (ANEXO 11 A).

De igual manera, se utilizó la prueba exacta de Fisher para analizar el consumo de tabaco, donde los resultados no mostraron diferencia significativa (ANEXO 11 B).

IX.4.7 Análisis de asociación de Intercambio de Cromátides Hermanas con el tiempo de exposición a RI, variables bioquímicas y hematológicas

Se analizó la correlación de la cantidad de ICH con las variables bioquímicas y hematológicas, así como con el tiempo de exposición a RI y no se observaron correlaciones.

Al analizar los parámetros hematológicos y bioquímicos estudiados no mostraron significancia estadística a excepción de la cantidad de basófilos en sangre exhibe correlación positiva con la cantidad de ICH ($r=0.424$, $p=0.04$) (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de asociación de Intercambio de Cromátides Hermanas con el tiempo de exposición a RI, variables bioquímicas y hematológicas.

	Parámetro	Coefficiente de correlación	p
Cantidad ICH	Glucosa	-0.260	0.23 (NS)
	Urea	-0.310	0.15 (NS)
	Nitrógeno ureico	-0.311	0.14 (NS)
	Creatinina	0.143	0.51 (NS)
	Ácido ureico	-0.366	0.08 (NS)
	Colesterol	-0.097	0.65 (NS)
	Triglicéridos	-0.070	0.75 (NS)
	Eritrocitos	-0.368	0.08 (NS)
	Hemoglobina	-0.340	0.11 (NS)
	Hematocrito	-0.356	0.09 (NS)
	VCM	0.097	0.65 (NS)
	HbCM	0.070	0.74 (NS)
	Conc. HbCM	0.022	0.92 (NS)
	Plaquetas	0.155	0.47 (NS)
	Distribución de eritrocitos	0.173	0.42 (NS)
	Volumen medio de plaquetas	-0.016	0.94 (NS)
	Leucocitos totales	0.097	0.65 (NS)
	Segmentados	0.098	0.65 (NS)
	Linfocitos μL	-0.059	0.78 (NS)
	Monocitos μL	0.088	0.68 (NS)
	Eosinófilos μL	-0.092	0.67 (NS)
	Basófilos* μL	0.424	0.04*
	Segmentados %	0.129	0.55 (NS)
	Linfocitos %	-0.073	0.73 (NS)
	Monocitos %	0.081	0.71 (NS)
	Eosinófilos	-0.038	0.86 (NS)
	Basófilos	0.259	0.23(NS)
	Tiempo de exposición a RI	-0.192	0.36 (NS)

Se observa correlación existente entre la cantidad de ICH y los basófilos

*: $p \leq 0.05$

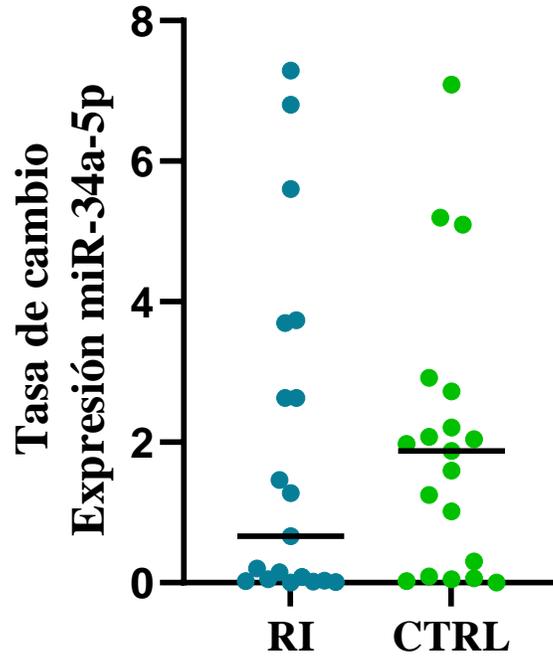
Método estadístico: Correlación de Pearson y correlación de Spearman.

IX.5 Análisis de expresión de miR-34a-5p

IX.5.1 Análisis de expresión de miR-34-5p en ambos grupos de estudio

En el análisis de expresión de miR-34a-5p se registró en el POERI una media de 1.915 ± 2.438 y en el grupo CTRL 1.979 ± 1.983 , observando una tendencia a la alta expresión en el grupo CTRL, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.678$) (Figura 18). Se presentó heterogeneidad en la expresión de los sujetos de estudio de ambos grupos (Figura 18).

Figura 18. Análisis de expresión de miR-34a-5p en ambos grupos de estudio.



Se grafican los resultados de expresión de miR-34a-5p, el POERI (etiquetado como “RI” con símbolos color azul) presenta una media de 1.915 ± 2.438 y en el grupo control (etiquetado como “CTRL” con símbolos color verde) reporta una media de 1.979 ± 1.983 ($p=0.678$)

Método estadístico: Prueba de Wilcoxon.

IX.5.2 Análisis de asociación de la expresión de miR-34a-5p con parámetros clínicos, tiempo de exposición a RI, edad y cantidad de ICH.

El análisis de asociación de la expresión con las variables bioquímicas y hematológicas, así como con el tiempo de exposición a RI, la edad y cantidad de ICH solamente se identificó relevancia estadística en el porcentaje de monocitos (Tabla 11).

Tabla 11. Asociación de expresión de miR-34a-5p con variables bioquímicas, variables hematológicas, años de exposición a RI, edad y cantidad de ICH.

	Parámetro	Coefficiente de correlación	p
Expresión de miR-34a-5p	Glucosa	0.175	0.48 (NS)
	Urea	-0.133	0.59 (NS)
	Nitrógeno ureico	-0.133	0.59 (NS)
	Creatinina	0.365	0.13 (NS)
	Ácido úrico	-0.090	0.72 (NS)
	Colesterol	0.199	0.42 (NS)
	Triglicéridos	0.119	0.63 (NS)
	Eritrocitos	0.223	0.37 (NS)
	Hemoglobina	0.249	0.31 (NS)
	Hematocrito	0.221	0.37 (NS)
	VCM	0.153	0.54 (NS)
	HbCM	0.175	0.48 (NS)
	Conc. HbCM	0.211	0.39 (NS)
	Plaquetas	0.050	0.84 (NS)
	Distribución de eritrocitos	-0.084	0.73 (NS)
	Volumen medio de plaquetas	-0.231	0.35 (NS)
	Leucocitos totales	0.011	0.96 (NS)
	Segmentados μL	-0.024	0.92 (NS)
	Linfocitos μL	0.150	0.55 (NS)
	Monocitos μL	0.342	0.16 (NS)
	Eosinófilos μL	-0.035	0.88 (NS)
	Basófilos μL	-0.062	0.80 (NS)
	Segmentados %	-0.078	0.75 (NS)
	Linfocitos %	0.090	0.72 (NS)
	Monocitos %	0.570	0.013*
	Eosinofilos %	-0.038	0.87 (NS)
	Basofilos	-0.138	0.52 (NS)
	Tiempo de exposición a RI	-0.077	0.75 (NS)
	Edad	-0.018	0.94 (NS)
	Cantidad ICH	0.136	0.57 (NS)

La expresión de miR-34a-5p presentó asociación con la cantidad de monocitos.

Método estadístico: Correlación de Pearson y correlación de Spearman.

X. DISCUSIÓN

En la presente investigación se analizó la cantidad de ICH y la expresión de miR-34a-5p en POERI, parte del área de radiodiagnóstico hospitalario comparado con un grupo control no expuesto a este tipo de energía. Con este estudio se pretende analizar el impacto en el perfil citogenético desencadenado por la exposición a RI y su relación con el patrón de expresión de este microRNA.

En el presente proyecto se estudiaron 24 POERI de seis instituciones de salud y 24 individuos control, cuya población provino de 9 municipios del estado de Sinaloa; permitiendo contar de esta manera, con muestra heterogénea en cuanto a las instituciones de procedencia, así como del lugar de nacimiento.

En nuestro estudio para la obtención de ICH tratamos de establecer una n adecuada basándonos en estudios anteriores, sin embargo, no encontramos una cantidad específica o una fórmula que nos diera un número adecuado para este tipo de análisis por lo que escogimos una N basándonos en una media aproximada entre todas N las investigaciones realizadas previamente. Por lo tanto, consideramos que la n de 24 individuos POERI y 24 individuos CTRL pareados por edad y sexo podría ser de gran utilidad y ser representativa de nuestro estado. Podemos destacar que esta N pudiera ser similar a la presentada por distintos estudios sobre diversos genotóxicos. Tal es el caso de Erol, M. y cols. (2001) que estudiaron a 11 POERI y 11 CTRL pareados por edad y sexo. Asimismo, Eken, A. y cols. (2010) contaron con una n de 70 individuos divididos en 40 POERI y 30 CTRL pero en este caso no estuvieron pareados. En cambio, Tug, E. y cols. (2013) examinaron a 39 POERI y 35 CTRL similar a nuestro estudio pareados por edad y sexo. En el mismo año, Garibay, J. (2013) consideró los ICH de 17 pacientes con cáncer de mama, por otra parte, Santovito, A. y cols. (2014) consideraron a 21

POERI y 21 controles, Doukali, H. y cols. (2017) obtuvieron una n de 29 POERI más 35 CTRL. Por su parte, Hussein, M. y cols. (2022) analizaron 30 POERI y 20 CTRL (12, 64, 94, 127, 128, 129, 130).

En nuestro estudio se obtuvieron 15M y 9F de cada grupo de estudio donde se puede observar que la mayoría fueron masculinos, similar a los estudios realizados por Erol, M. y cols. (2001); Santovito, A. y cols. (2014) y Hussein, M. y cols. (2022) (Tabla 4) y contrariamente a lo reportado por Tug, E. y cols. (2013) y Doukali, H. y cols. (2017) donde la conformación del grupo POERI fue mayoritariamente femenino. En uno de los estudios reportados no especifican esta variable en su población y en otro de los estudios analizaron solamente personas del sexo femenino (12, 64, 94, 127, 128, 129, 130).

La edad mínima solicitada para participar en el proyecto fue de 18 años debido a que este es un requisito general que considerar para fungir como POERI, sin embargo, no existe evidencia de un rango de edad específico a analizar en cuanto al perfil citogenético y molecular en estos individuos. Por consiguiente se reporta una media de edad presentado en nuestra población de estudio de 37.08 ± 8.9 años (rango 24-61 años) (Tabla 4), en comparación con lo divulgado por Erol, M. y cols. (2001) que su población cuenta con una media de edad de 34.36 ± 3.85 años, por otro lado, Tug, E. y cols. (2013) reportan que la media de edad de su población es de 33.87 ± 6.91 años, de la misma manera Garibay, J. (2013) reporta que la edad media de la población estudiada fue de 47 años (rango 37-61 años), Doukali, H. y cols. (2017) exponen que los individuos estudiados presentan una media de edad de 43.52 ± 8.89 (rango 27-58 años), por último, Hussein, M. y cols. (2022) reportan un rango de edad de población de 22 a 57 años (12, 64, 94, 128, 130).

Se recopilaron datos sobre el tiempo de exposición crónica a bajas dosis a RI por parte del POERI, mostrando un rango desde 0.8 años hasta 38 años, con una media de 12.8 ± 9.4 años desempeñándose como POERI (Tabla 4), se incluyó al personal con disparidad respecto a esta variable con la finalidad de contar con los datos necesarios para analizar el potencial de los marcadores estudiados como parámetros biodosimétricos. En los antecedentes consultados referentes al tema se evidencia diversidad en cuanto al tiempo laborando como POERI, como lo publicado por Tug, E. y cols. (2013) cuya media de tiempo de exposición a RI es de 12.34 ± 6.27 años, por otro lado, Santovito, A. y cols. (2014) reportan una media de 9.714 ± 8.730 años (rango 1-29 años), de la misma manera Doukali, H. y cols. (2017) presentan una media de 14.65 ± 7.22 (rango 3-33 años), finalmente, Hussein, M. y cols. (2022) exponen un rango de 5 a 20 años (12, 94, 129, 130).

De la misma manera se reunieron datos sobre los hábitos de vida, destacando el hecho de fumar cigarrillos de tabaco, debido a que el consumo de este producto libera alrededor de 70 compuestos nocivos para la salud que inducen al deterioro del material genético como *DSB* y a su vez generan *ROS* (131). Se le consideró como fumador a todo aquel individuo que fumara tabaco de manera habitual independientemente de la cantidad de cigarrillos consumidos al día, coincidiendo con lo publicado por Kumar, J. y cols. (2012), Doukali, H. y cols. (2017) y Hussein, M. y cols. (2022) (91, 94, 130). Sin embargo, de acuerdo con Tug, E. y cols. (2013) el valor de corte mínimo de cigarrillos fumados al día para contemplar a un individuo como fumador es de 10 cigarros, obteniendo resultados estadísticamente significativos (12). En el grupo POERI el 16.6% reportó fumar tabaco de manera habitual, mientras que el 83.3% de este grupo no lo hace; en cuando a los individuos CTRL el 8.3% menciona fumar tabaco y el 91.6% de este conjunto no consume tabaco (Tabla 4). No se evidenció significancia estadística en el

consumo de alcohol y tabaco en nuestra investigación (ANEXO 11), en el caso del consumo de tabaco probablemente debido a que los individuos que reportaron fumar no consumen lo suficiente para que impacte en el mecanismo de reparación del DNA.

El consumo de alcohol también se ha relacionado con el incremento de la cantidad de ICH debido a que un producto del metabolismo del alcohol es el acetaldehído (AA, del inglés *Acetaldehyde*), compuesto considerado como un agente genotóxico (91, 132). La presencia de AA en el organismo provoca la aparición de *DSB* que son reparadas mediante el mecanismo de HR que resulta en ICH al aumentar la expresión de *Rad51* e inducir la activación de p53, dicho evento se presenta cuando la exposición al AA ocurre de manera prolongada a bajas dosis (133). Debido a lo anteriormente mencionado, es que se recabaron datos sobre el consumo de alcohol en nuestra población de estudio, dando como resultado que el 75% de POERI consume alcohol de manera ocasional, mientras que el 25% reporta no beber bebidas que contengan alcohol; en el caso de grupo CTRL el 41.6% reporta consumir alcohol de manera ocasional y el 58.3% no lo consume (Tabla 4). Conforme a los resultados de Tug, E. y cols. (2013) el consumo de alcohol fue insignificante por lo que no se consideró dentro del análisis estadístico (12), concordando con nuestros resultados (Tabla 13). Butler, M y cols. (1981) reportan que la cantidad de ICH se altera por el consumo de alcohol cuando el individuo presenta alcoholismo, a diferencia de cuando el consumo es ocasional, de la misma manera mencionan que es posible revertir este daño al eliminar el consumo del genotóxico (132).

Dentro del historial clínico se recopilaron datos sobre enfermedades crónico-degenerativas, donde se mencionó en el grupo POERI un individuo con DMt2 e HA (Tabla 4), lo cual es relevante debido a que el desajuste metabólico provocado por la patología DMt2 o el tratamiento de esta puede llegar a influenciar la cantidad de ICH o la expresión de miR-34a-5

(134, 135). Por otro lado, en el grupo CTRL un individuo reportó enfermedad renal crónica causada por un accidente mecánico (Tabla 4), empero no se encontraron registros de que la condición impacte alguno de los marcadores analizados.

Se evaluó la química sanguínea con el objetivo de mimetizar el análisis realizado de manera oficial en México en el POERI como parte de su monitoreo de salud, a pesar de ello, existe dualidad en los resultados de las investigaciones previas respecto al tema (45). En cuanto a los resultados de la química sanguínea no se mostró diferencia estadística en los valores de glucosa, urea, nitrógeno ureico, ácido úrico, colesterol y triglicéridos, a diferencia, la variable creatinina (Cr) mostró diferencia estadísticamente significativa, donde el grupo POERI resultó con una media de 0.87 ± 0.17 mg/dL mientras que el grupo CTRL presentó una media mayor debido a que fue de 0.95 ± 0.18 mg/dL (Tabla 5), no obstante, los resultados de la totalidad de participantes se presentó dentro de los valores de referencia utilizados en el laboratorio de análisis clínicos. En el caso de los participantes masculinos la creatinina mostró diferencia estadísticamente significativa, el POERI masculino presentó una media de 0.93 ± 0.13 y el grupo CTRL masculino una media de 1.06 ± 0.12 , valor de $p=0.008$ (Tabla 6), no se encontraron reportes bibliográficos donde se mencione este hallazgo. Es posible inferir que el la media mayor de Cr en el CTRL se debe a la realización de ejercicio ya que el grupo control más individuos hacen ejercicio en comparación con el grupo POERI, dado que existe evidencia sobre niveles elevados de Cr sérica en los individuos que realizan ejercicio de manera regular (136). De acuerdo con Borzoueisileh, S. y cols. (2020) los niveles séricos de Cr y *BUN* no son estadísticamente significativos en ratas expuestas a distintos niveles de radiación, sin embargo, estos valores se elevan en comparación con el valor utilizado como referencia (57). Silva, R. y cols. (2016) reportan que al analizar los parámetros bioquímicos de 45 individuos considerados

POERI no se evidenció diferencia importante comparados con el grupo control, incluso al hacer una distinción de sexo (137). Sin embargo, Serhatlioğlu, S. y cols. (2004) encontraron que los niveles de triglicéridos presentan diferencia estadística entre el POERI y controles, al igual que diferencia en inmunoglobulinas planteando los cambios a nivel inmunológico a causa de la exposición a RI (138). En contraste, Rezaei, B. y cols. (2023) al analizar a personal médico expuesto a RI y gases anestésicos comparadas con un grupo control no mostraron diferencia en los parámetros bioquímicos (139).

Otro parámetro evaluado en el examen propuesto en la NOM-026-NUCL-2011 es la glucosa, esto debido a que la exposición a RI altera la homeostasis de la glucosa a nivel organismo, estos datos concuerdan con los resultados de Nylander, V. y cols. (2016) donde se utilizó un modelo *in vivo* para probar los efectos de la irradiación en el metabolismo de la glucosa y se descubrió una alteración en el epigenoma, que a su vez modificó la homeostasis (45, 63, 140). Sin embargo, en nuestros resultados no se obtuvo resultados estadísticamente destacables, infiriendo que el metabolismo del POERI estudiado no presenta alteraciones provocadas por la RI, sin embargo, la media del POERI se encuentra por encima en comparación con el grupo CTRL (Tabla 5).

Además, otra característica estudiada dentro del análisis de la NOM-026-NUCL-2011 es el ácido úrico (45). El ácido úrico (AU) es un compuesto químico de desecho resultado del metabolismo de las purinas, puede estar presente en sangre o en orina y cumple un rol antioxidante en el organismo al captar las moléculas de ROS y RNS (141, 142). Paithankar, J. y cols. (2020) analizaron el papel del AU ante la exposición a RI utilizando como modelo de estudio a *Drosophila melanogaster*, dado que dicha especie presenta de manera natural radioprotección y fibroblastos de origen humano, los cuales fueron sometidos a radiación

ionizante con y sin presencia de AU, presentando una mejor viabilidad celular cuando el AU se encontraba en el medio, confirmando así que el aumento de AU puede representar un agente protector ante la irradiación al minimizar los efectos indirectos de la RI (143). De acuerdo con los resultados obtenidos por Ismail, A. y cols. (2021) el AU aumenta en el POERI comparado con el grupo control (56), sin embargo en los resultados de nuestra investigación no se presentó diferencia estadísticamente significativa empero se presenta una media mayor en el grupo POERI comparado con grupo CTRL pero dentro del límite de referencia del laboratorio, llegando a inducir que este aumento está relacionado con la necesidad de capturar las *ROS* derivados de los daños indirectos generados por la RI (Tabla 5).

Se cuenta con registro sobre el impacto de la RI en algunos metabolitos en modelos animales o en componentes sanguíneos humanos, sin embargo, presentan discordancia en los resultados, en los que algunas investigaciones reportan la utilidad de estos parámetros como marcadores dosimétricos mientras que en otros estudios reportan estas variables no cuentan con potencial para confirmar exposición a RI o medir la dosis absorbida y otro factor importante a considerar es el tipo de radiación ionizante y la fuente de la exposición (56, 138, 143, 144, 145). Existe una faltante bibliográfica sobre la evaluación entre el tiempo de exposición a RI del POERI y las variables analizadas en la química sanguínea, en nuestros resultados los valores de urea, ácido úrico, nitrógeno ureico y colesterol mostraron una correlación positiva con el tiempo de exposición a RI (Tabla 7), lo que puede deberse a que la exposición a bajas dosis de RI de manera constante por tiempo prolongado aumenta la cantidad de *ROS*, que a su vez las *ROS* promueve el almacenamiento de colesterol, transformándose en un ciclo autotóxico potenciado por la exposición a RI debido a que la acumulación de este lípido genera mayor estrés oxidativo, perpetuando el daño al DNA que impacta el perfil citogenético (56). Coincidiendo con lo

registrado en nuestra investigación, Lenarczyk, M. y cols. (2019) reportan los efectos a nivel bioquímico de la RI en modelo de rata donde la Cr, el *BUN*, colesterol y los triglicéridos se identifican como biomarcadores que se alteran en relación con la dosis recibida (145). Sin embargo, las modificaciones bioquímicas son asociadas a diversos factores como con el envejecimiento, sexo, genética, el estilo de vida y el ambiente; se reporta un incremento en los niveles séricos de ácido úrico, colesterol, triglicéridos, creatinina, urea y glucosa de acuerdo con la edad (146, 147, 148). En nuestra investigación se identificó significancia estadística en cuanto a el ácido úrico y colesterol (Tabla 8) en relación con la edad del POERI, no obstante, a excepción de un sujeto, los individuos estudiados niegan diagnóstico previo de enfermedad metabólica al igual que los resultados de la química sanguínea se encuentran dentro de los valores de referencia, infiriendo que la edad modifica estas variables empero no establecen la presencia de alguna patología o que se presentan debido exclusivamente a la exposición a RI.

Así mismo se realizó un análisis de parámetros hematológicos mediante una biometría hemática, estudio realizado dentro de la NOM-026-NUCL-2011 (45). Se presenta contraste en cuanto a los resultados de distintas investigaciones donde algunas reportan que existe diferencia estadísticamente significativa de la biometría hemática (BH) del POERI, mientras que algunas investigaciones mencionan que no es relevante este estudio (51, 52, 55, 137, 149, 150); en nuestra investigación la BH no mostró resultados estadísticamente significativos en ninguna variable entre el POERI y CTRL (Tabla 9), ni al realizar una distinción de acuerdo con el sexo (ANEXO 4 y ANEXO 5); similar a los resultados en relación con el tiempo de exposición a RI (ANEXO 6). Según lo publicado por Silva, R. y cols. (2016) al analizar los parámetros hematológicos del POERI hospitalario y grupo control no se expone diferencia estadística en estos valores en relación con la exposición a RI (137). Por otro lado, Heydarheydari, S. y cols.

(2016) reportan que las variables Hb y VCM se presentan disminuidos de manera considerable comparado con el grupo control cuando existía un mínimo de 10 años de exposición a RI y se menciona que estos marcadores posiblemente pueden utilizarse para análisis dosimétrico (52); de igual manera, la titulación de plaquetas también se propone como un marcador dosimétrico en POERI ya que se reporta que existe inicialmente una trombocitosis seguidos de una trombocitopenia debido a la exposición a RI, pese a que nuestros resultados no identifican diferencia estadística en cuanto al volumen plaquetario (Tabla 9) (55).

Además, Surniyantoro, H. y cols. (2019) indican que existe una diferencia notable en el conteo de total de eritrocitos y leucocitos, en el VCM, hematocrito, linfocitos y monocitos entre el POERI y los controles, también realizaron una regresión lineal para analizar la correlación entre los parámetros hematológicos y los años de exposición a RI, donde únicamente el conteo de eritrocitos mostró un impacto en relación con la dosis absorbida (150). Por otro lado, Ismail. A. y cols. (2021) reportan que el conteo de eritrocitos y leucocitos se incrementa y las plaquetas disminuyen en el POERI en relación con el grupo control (56)

Concordando con la viabilidad de utilizar la biometría hemática como indicador dosimétrico, Güngördü, N. y cols. (2022) realizaron un seguimiento de los valores hemáticos presentados por de 169 POERI y 170 controles, resultando en que el nivel de eritrocitos y neutrófilos disminuyen cuando existe una exposición a RI menor a 10 años, a diferencia de cuando la exposición al genotóxico es mayor de 10 años cuando se presenta aumento en la distribución de eritrocitos y disminución de Hb, neutrófilos y eritrocitos, llegando a concluir que existe sinergia entre la dosis absorbida y el sistema hematopoyético (51). Por último, Bahrami, A. y cols. (2023) reportan que solo los eosinófilos se alteran por la exposición a RI en el POERI en relación con el grupo control (149).

La modificación de los parámetros hematológicos puede deberse a múltiples factores, entre estos, la edad, debido a que el proceso de envejecimiento impacta la producción de células hematopoyéticas, en modelos animales se ha identificado aumento de los niveles de monocitos, eosinófilos, neutrófilos, hematocrito y eritrocitos, así como la disminución de la cantidad de linfocitos, plaquetas, VCM y HbCM (146, 151). En los resultados de nuestro ensayo no se identifica significancia estadística (ANEXO 7) en cuanto a estas variables posiblemente por el rango de edad de la media de la muestra (37.08 ± 8.9 años) ya que de los 20 a los 60 años de edad estos valores se mantienen estables (152).

Es posible inferir que el contraste de resultados estadísticamente significativos en cuanto a los parámetros bioquímicos y hematológicos del grupo POERI y grupo CTRL tanto en esta investigación como en los reportes previos es debido a diversos factores como el correcto uso de equipo de protección personal, a la tecnología de los equipos de imagen a los que está expuesto el POERI, los hábitos de vida y que los cambios de estas variables se presentan de manera evidente cuando existe una probable patología hematológica o cuando existe una exposición aguda a RI, como un accidente radiológico donde el organismo recibe altas dosis de RI en un lapso corto de tiempo, alcanzando el establecimiento del síndrome hematopoyético. No obstante, existe evidencia sobre las alteraciones hematológicas en el POERI a consecuencia de la exposición a dosis bajas de RI de manera crónica, que se presentan en relación con el tiempo laborando con este tipo de energía, donde existen registros sobre patologías ocupacionales padecidas por el POERI, dentro de las cuales se refleja modificación del DNA (51, 52, 55, 149, 150).

La RI al entrar en contacto con las células del organismo puede causar daños directos en el material genético o indirectos donde las moléculas generadas a consecuencia de dicha relación

son las que interactúan con el DNA, ambos tipos de daño desencadenan distintas cascadas de señalización que inducen diversos efectos en la célula, que a su vez se categorizan como efectos estocásticos en los cuales la célula aún es viable mediante la reparación de la modificación en el DNA, sin embargo, estas alteraciones se acumulan durante el tiempo de vida de la célula, senescencia celular temprana o en el arresto del ciclo celular y los efectos determinísticos en donde se induce la apoptosis de la célula irradiada (2, 9, 37, 41, 42, 43).

El DNA al ser una molécula afectada por la irradiación ha sido tema de estudio en el POERI que se expone de manera crónica a dosis bajas de RI y que, por otro lado, cuenta con un EPP y dosímetro para monitorear la cantidad de dosis recibida, sin embargo, es cuestionable el uso correcto de estos, por lo que es de sumo interés analizar si la RI llega alterar el perfil citogenético, debido a esto, el área de la citogenética es prometedora en cuanto a la identificación de biomarcadores que permitan la evaluación acertada del estado de salud de estos individuos (2, 11, 26, 47, 64).

La citogenética ofrece un amplio catálogo de técnicas que permiten evaluar diferentes aspectos del genoma de los organismos sometidos a distintas condiciones, como analizar el efecto de la exposición a genotóxicos como lo es la RI mediante el Intercambio de Cromátides Hermanas (8, 11, 39, 65).

El ICH es un mecanismo de reparación del DNA mediante Recombinación Homóloga, parte del *DDR*, donde se utiliza a la cromátide homóloga como templado para reintegrar la secuencia de materia genético durante la fase de síntesis del ciclo celular (39, 65). El proceso de reparación mediante ICH requiere de la participación de múltiples moléculas con un papel específico dentro de la cascada, como el reconocimiento de la lesión por parte del complejo

MNR y ATM, la unión de EXO1 al sitio de daño, la agregación de Rad54 en forma de filamento que es sustituida por Rad51 que forma un puente proteico en busca de la secuencia homóloga en la cromátide intacta, una vez la detecta se forma una *HJ* para permitir que la polimerasa sintetice el material faltante, se genere una segunda *HJ* que al resolverse se genera el intercambio entre las cromátides (73, 76, 81, 84). Este proceso de reparación se presenta de manera natural en los seres vivos, sin embargo, la cantidad de ICH por cada metafase es la que indica el daño (90).

Es posible visualizar los intercambios de cromátides hermanas al microscopio gracias al marcaje con BrdU de la cromátide recién sintetizada, por lo que se propone como un marcador que indica exposición a RI, para realizar el análisis de nuestra población de estudio se realizó la estandarización de la técnica bajo las condiciones del Laboratorio de Genética de la FMUAS. La técnica base requirió de múltiples variaciones para estandarizar las condiciones ideales como modificaciones en la composición del medio, concentración de BrdU y cambios en el proceso de tinción (ANEXO 8).

Existen registros de que el POERI presenta mayor cantidad de ICH en comparación con los individuos no expuestos de RI debido a que la irradiación provoca inestabilidad cromosómica, no obstante, de igual manera se ha reportado que este marcador no es significativo en esta circunstancia (8, 12, 18, 64, 94, 127, 129, 130, 153, 154). De acuerdo con los resultados de nuestra investigación en cuanto al análisis citogenético mediante conteo de ICH, el POERI ($M=7.033\pm 0.860$) en comparación con el grupo control (CTRL) ($M=4.717\pm 1.061$) presenta una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0001$) (Figura 15), concordando con lo reportado por Tug, E. y cols. (2013), Doukali, H. y cols. (2017) ($p<0.001$) y Hussein, M. y cols. (2022) que coinciden en que la exposición a RI afecta este mecanismo de reparación causando la

acumulación de ICH en las metafases de los linfocitos analizados ($P < 0.05$) (12, 94, 130). De acuerdo con Tug, E. y cols. (2013) estudiaron los ICH de POERI y grupo control donde se presentó un incremento de ICH significativo, no obstante, la media de ICH de ambos grupos están por debajo de lo encontrado en nuestros resultados ya que el POERI en su investigación resultó con una media de 5.19 ± 1.06 y el grupo CTRL una media de 3.38 ± 1.13 (12). Por otro lado, Santovito, A. y cols. (2013) también reporta un incremento de ICH en el POERI comparado con el grupo CTRL ($p = 0.003$) y proponen el análisis de aberraciones cromosómicas en conjunto para analizar al POERI debido a que presentan alteraciones incluso cuando la dosis absorbida se encuentra dentro de los límites establecidos (129). En conjunto, Doukali, H. y cols. (2017), proponen distintos marcadores citogenéticos con potencial de biomonitoreo del POERI, entre ellos los micronúcleos y el ICH, al igual que biomarcadores moleculares como los polimorfismos *XRCC1* 399 Arg/Gln y *XRCC3* 241 Thr/Met, de acuerdo con sus resultados ambos marcadores de daño al DNA se presentan elevados en el POERI, mientras que los polimorfismos no son significativos bajo este contexto, por lo que proponen un escrutinio minucioso del POERI mediante análisis citogenético, al igual que plantean como cantidad umbral de ICH 12 intercambios (94). Coincidiendo con los resultados favorables de la supervisión del POERI mediante análisis citogenético, Hussein, M. y cols. (2022), evaluaron los ICH en dichos individuos en conjunto con el ensayo cometa y análisis de mutaciones en el gen *HPRT* (del inglés *Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase 1*), donde los 3 marcadores indican aptitud como dosimétricos (130).

Al aplicar un análisis minucioso dividiendo por sexo al POERI (M vs F) se reflejó que también existe una diferencia estadística siendo los Femeninos las que presentan una mayor cantidad de ICH (Figura 16), mientras que la comparación por sexo en el grupo CTRL no se

mostró diferencia, sin embargo, los Femeninos mostraron mayor ICH (Figura 16). El proceso de reparación del DNA ha sido ampliamente estudiado en los humanos, sin embargo, la información es escasa en cuanto a la confrontación de estos mecanismos entre hombre y mujeres, por lo que sigue siendo campo de estudio; respecto al ICH existen pocos registros, no obstante, se reporta que las mujeres suelen presentar 0.5 más ICH por metafase en contraste con los hombres (155, 156). Por otro lado, en la población estudiada por Tug, E. y cols. (2013) realizando la misma división de grupos como se mencionó anteriormente, no evidencian dicho cambio ($p=0.77$), concordando con lo reportado por Santovito, A. y cols. (2013) proponiendo que el sexo no influye en la aparición de ICH (12, 129). Al comparar F CTRL vs F POERI, al igual que M CTRL vs M POERI, se encontró elevado significativamente la cantidad de ICH de ambos grupos POERI (Figura 17), lo que permite elucidar que la exposición a RI altera la estabilidad cromosómica independientemente del sexo, concordando con los resultados de Tug, E. y cols. (2013) al evaluar a población de la misma manera: M ($p=0.001$) y F ($p=0.004$) (12), sin embargo, en nuestro experimento se observa mayor significancia en el análisis de los M ($p=0.0001$).

Se han realizado revisiones sistemáticas y metaanálisis sobre los probables marcadores biológicos aplicables en el POERI, distinguiendo a las aberraciones cromosómicas que se presenta 3.19 veces mayor en el POERI que en el grupo CTRL, a los MN que se presenta 1.42 veces incrementado debido a la RI y los ICH presentes 4.89 veces más a raíz de la RI, sin embargo, se menciona que el potencial del ICH debe ser evaluado ya que puede afectarse por otras condiciones externas como el contacto con pesticidas (8, 18). Discrepando de otras investigaciones, existe bibliografía que expone la falta de significancia en la cantidad de ICH en el POERI, como Eken. A. y cols. (2010) cuyos resultados no mostraron diferencia entre la

población expuesta a RI y la que no tuvo contacto con el genotóxico, proponiendo a los MN como marcadores adecuados para analizar de manera individual al POERI (127).

Al realizar la correlación de variables bioquímicas, hematológicas y el tiempo de exposición a RI con la cantidad de ICH únicamente los basófilos presentaron conexión débilmente positiva (Tabla 10), no obstante, la evidencia reporta que la exposición a RI provoca desequilibrio inmunológico alterando la cantidad de distintos tipos celulares como el aumento de los basófilos o que no presentan diferencia en relación con la RI (149, 157). Sin embargo, no se encontraron registros sobre la posible relación de la cantidad de basófilos con la cantidad de ICH, empero existe evidencia de la sinergia que existe con la liberación y acumulación de IgE liberada por los basófilos y la aparición de daño en el DNA en el tejido epitelial (158). Nuestros resultados identificaron la tendencia al aumento de basófilos, lo que podría establecer basofilia, la cual es relacionada con la aparición de patologías hematológicas como distintos tipos de leucemia, que a su vez, su establecimiento está (159) relacionado con la exposición a RI y se reportan como patologías ocupacionales en el POERI (160).

Por otro lado, se ha estudiado el patrón de expresión de distintas moléculas como indicadores de estados fisiológicos o patológicos del organismo, siendo un ejemplo los miRNAs, los cuales regulan la expresión génica a nivel postranscripcional mediante la degradación o captura del mRNA (14, 15, 95, 96).

El análisis de la expresión de miRNAs viabiliza la identificación de biomarcadores bajo condiciones determinadas, como la exposición a RI, sin embargo, actualmente el reconocimiento de miRNAs específicos representa un reto científico (17, 110). La cantidad de

RI absorbida, el tipo de RI, así como el tiempo que se estuvo expuesto a la fuente de energía impacta en la respuesta del organismo y en los mecanismos de reparación (17).

Investigaciones recientes sobre el efecto que tiene la exposición a RI sobre distintos tipos celulares utilizan diversos modelos *in vivo* como ratones, ratas o chimpancés no humanos, así como el uso de modelos *in vitro* con diversas estirpes celulares, o bien, analizar fluidos humanos de pacientes vivos, permitiendo ampliar el conocimiento de respuesta ante esta condición(16, 17, 120, 161).

Se han realizado revisiones sistemáticas para identificar los miRNAs con potencial como biomarcadores ante la exposición a RI y como dosimétricos, identificando a miRNA supresor de tumores miR-34a, sin embargo, no se reporta la secuencia 3p o 5p analizada, no obstante, existe reporte sobre variación mínima entre la expresión de miR-34a-3p y miR-34a-5p en vesículas extracelulares (17, 110, 118, 162). miR-34a-5p se presenta de manera normal en los tejidos humanos; se encarga de regular la expresión de alrededor de 700 moléculas, estas a su vez involucradas en la apoptosis, senescencia celular, hematopoyesis, regulación y progresión del ciclo celular; debido a que el proceso de división celular es sumamente relevante para la supervivencia de un individuo es que se ha estudiado el investigado la sinergia entre miR-34a-5p, la exposición a RI y el aumento de ICH (73, 111, 118, 120, 163).

Halimi, M y cols. (2016) reportan la sobreexpresión de miR-34a en suero sanguíneo de donantes sanas y de pacientes con CA de mama antes y después de recibir radioterapia, reportando un aumento del miRNA en las pacientes con CA en relación con el grupo control, al igual que miR-34a-5p se presenta sobreexpresado después de recibir radioterapia, concluyendo que la expresión del miRNA cambia en respuesta a la exposición a RI (16), no obstante el patrón

de expresión de miR-34a-5p de modifica en los pacientes con cáncer, por lo que es complicado definir si la alteración del miRNA es debido a la exposición a RI o al proceso patológico. En otro estudio realizado por Huber, C y cols. (2024) analizaron la expresión de miR-34a-5p en microvesículas de distintos tamaños derivadas de la sangre humana postexposición a distintas dosis de RI, entre ellas la dosis promedio utilizada durante una sesión de radioterapia de 2 Gy, se aplicó a sangre humana de donantes sanos la exposición directa a RI, resultando en una sobreexpresión del miRNA proveniente de microvesículas totales desde las 24 hasta las 96 horas después de la irradiación, no obstante, también se reporta heterogeneidad en los resultados individuales del patrón de miRNAs expresados entre microvesículas totales y microvesículas pequeñas, al igual que describen alteraciones en vías de bioquímicas y de señalización como la viabilidad y senescencia celular debido a que se afectó la cantidad celular encontrada en la muestra (162). La heterogeneidad de resultados individuales de expresión del miRNA visibiliza la variabilidad que puede existir entre sujetos que son sometidos al mismo estímulo, evidenciando la necesidad de estandarizar la muestra apta que permita la estandarización.

Además, de acuerdo con Zeng, H. y cols. (2019) miR-34a modula la respuesta de la reparación del material genético en las células hematopoyéticas de ratón después de haber sido irradiadas, estableciendo una relación entre la presencia del miRNA y la eficiencia de reparación mediante *HR* y *NHEJ*, ya que la deficiencia del miRNA provoca una disminución de la actividad de *DDR* cuando se presenta irradiación de manera aguda y las células llegan a presentar daños permanentes debido a la acumulación de lesiones en el material genético; asimismo se presenta una diferencia de expresión del miRNA de acuerdo con la cantidad de RI a la que el modelo fue expuesto, presentando la máxima expresión a las 24 horas después de la irradiación y disminuyendo sus niveles con el paso de las horas (120). MiR-34a regula procesos de

producción y maduración de células sanguíneas, así como la respuesta inmune y la aparición de patologías hematológicas, por lo que los cambios en su expresión representan riesgo de desarrollo de patologías como leucemias, las cuales también se asocian con la exposición a RI (120). La discordancia de resultados con nuestra investigación probablemente se deba a la diferencia en el tipo de exposición a la que está sometido el POERI, ya que se presenta de manera crónica y portan EPP, lo que podría permitir al organismo en conjunto con otras moléculas modular la expresión de miR-34a-5p permitiendo la reparación gradual de *DSB* mediante ICH.

Por otro lado, Stankevics, L y cols. (2013) estudiaron los efectos de la RI a bajas dosis en la expresión de miR-34a *in vitro* utilizando células sanas de mama y células cancerosas de mama, observando que se sobreexpresa el miRNA desde las 4 horas postirradiación y a las 24 horas comienza un descenso de expresión, identificando que miR-34 puede relacionarse con la cantidad de radiación, la estirpe celular y el tiempo de exposición; la investigación se realizó con la finalidad de analizar los efectos que tiene la mastografía sobre las células de mama, debido a que se diversas estudios indican que la irradiación a dosis bajas de RI sobre células de mama pueden afectar el DNA de mayor manera de lo considerado, de acuerdo con los resultados se identificó que existe daño al material genético, sin embargo, es posible repararlo una vez se elimina el agente genotóxico, lo que normaliza la expresión de miR-34a y p53 (122).

Aunado a estos resultados, Liu, C. y cols (2011) reportaron que se presenta mayor radiosensibilidad en ratones jóvenes comparado con ratones adultos, así como observaron distinta radiosensibilidad y diferencia en la expresión de miR-34a en distintos órganos como el bazo, hígado y timo, también identificaron que miR-34a se encuentra en el suero sanguíneo de ratones de distintas edades que han sido irradiados, mientras que no se encontró a p53 en este

fluido, reforzando la propuesta como biomarcador de miR-34a, ya que podría indicar lesión por exposición a RI, radioprotección y radiosensibilidad relacionado con la edad del sujeto irradiado (123).

Al existir un daño al material genético inducido por RI se activa el sistema *DDR* que es regulado por la acción de diversos miRNAs, así como por la actividad de p53, que a su vez, p53 promueve la expresión de miR-34a y viceversa debido a que las regiones del promotor del gen *MIR34* es secuencia palindrómica que se complementa con los sitios de unión de p53; por otro lado las *DSB* provocan la expresión de *ATM* que induce la expresión de miR-34a-5p (113, 164). Se ha analizado la sinergia que existe entre miR-34a-5p y la activación del sistema *DDR*, específicamente con el mecanismo *HR* que produce la aparición de ICH (113, 120, 165, 166).

miR-34a-5p regula distintas moléculas, entre ellas, se encuentran algunas involucradas en la regulación y progresión del ciclo celular como *CDK4/6* y *BCL2*, como también regula moléculas cuya función es reparar las *DSB* mediante *HR* como *Rad51*, fundamental para la búsqueda de la secuencia homóloga en la cromátide hermana, formar el puente proteico permitiendo la creación de una *HJ*.

Los resultados de nuestra investigación sugieren que no existe una alteración estadísticamente significativa en la expresión de miR-34a-5p en el POERI ($M = 1.915 \pm 2.438$) en comparación con el grupo CTRL ($M = 1.979 \pm 1.983$) ($p = 0.678$) (Figura 18). No se encontró reportes bibliográficos en los cuales se evaluara la expresión de este miRNA bajo el contexto específico donde se analice al POERI, sin embargo, existen antecedentes donde este miRNA es utilizado como biomarcador de exposición a RI y se propone como parámetro dosimétrico (16, 17, 110, 111, 120, 122, 123). La asociación entre la expresión de miR-34a-5p y la cantidad de

ICH en el POERI no se ha reportado anteriormente, no obstante, de acuerdo con la revisión bibliográfica probablemente existe una relación entre la expresión del miRNA y la aparición de ICH debido a que miR-34a-5p regula la traducción de *Rad51*, que promueve la formación de ICH, empero esta vía molecular no está descrita aún.

De acuerdo con los resultados de nuestra investigación, no se observó significancia estadística (Figura 18), sin embargo, se identificó una tendencia a la baja expresión del miR-34a-5p en POERI en relación con el grupo CTRL, lo que podría indicar que la exposición a RI induce poca presencia del miR-34a-5p, permitiendo la expresión de *Rad51* y aumentando la reparación del daño al DNA mediante la *HR* mediante el incremento de ICH en linfocitos, considerando que está evaluando el fluido biológico de un organismo complejo, el cual cuenta con distintos mecanismos de reparación.

De igual manera, la tendencia a la baja expresión de miR-34a-5 en el POERI probablemente se deba a que reciben la irradiación de manera crónica a dosis bajas y este miRNA únicamente ha sido evaluado anteriormente cuando existe una exposición aguda a RI, como lo es la radioterapia o exposición directa en modelos *in vitro* e *in vivo*, no se encontraron reportes donde se utilice como marcador en exposición crónica a dosis bajas.

Existen reportes sobre distintos patrones de expresión de miRNAs en las diferentes células sanguíneas (macrófagos, monocitos, células T, células B, eosinófilos) dependiendo del contexto fisiológico o patológico en el que se analicen, así como está involucrada la familia miR-34 en la diferenciación de células progenitoras de la línea mieloide, específicamente la sobreexpresión de miR-34a regula la diferenciación que produce células dendríticas (167, 168). miR-34a-5p regula procesos inmunológicos ya que la expresión sobreexpresión del miRNA

produce alteración en la respuesta antitumoral al disminuir la expresión de receptores de quimiocinas para el reconocimiento de células tumorales por parte de los macrófagos M1, observando que existe una relación entre la expresión de miR-34a-5p y el cáncer (168, 169). Monocitos presentan mayor radiosensibilidad en comparación con otras células sanguíneas, después de la exposición a RI se activan diversas cascadas de señalización que conllevan al reclutamiento y aumento en la cantidad de monocitos (170) En nuestra investigación se identificó asociación débilmente positiva entre la expresión de mir-34a-5p ($r=0.570$, $p=0.013$) y el porcentaje de monocitos (Tabla 11), no obstante, no existe bibliografía con reporte similar donde se analice la exposición crónica a RI a dosis bajas como en el POERI, sin embargo, es posible inferir que puede existir alteración inmunológica asociada a la expresión de miR-34a-5p en el POERI.

XI. CONCLUSIONES

- 1.- El perfil bioquímico y hematológico resulta deficiente para el monitoreo del POERI, debido a que no se presentan alteraciones en relación con la exposición a RI
- 2.- La exposición a radiación ionizante a bajas dosis de manera crónica emitida por los equipos médicos utilizados en el estado de Sinaloa hasta el año 2024 aumentan la actividad de la recombinación homóloga del *DDR*.
- 3.- El Personal Ocupacionalmente Expuesto a Radiación Ionizante presenta mayor cantidad de intercambio de cromátides hermanas en relación con el grupo control en Sinaloa, al igual que se presenta mayor alteración en los femeninos POERI en relación con los masculino POERI.
- 4.- Masculinos y Femeninos POERI presentan alteración de DNA, sin embargo, los masculinos muestran mayor actividad de reparación del material genético.
- 5.- Los resultados obtenidos sugieren que el biomarcador citogenético ICH se le puede considerar como indicador de exposición a radiación ionizante, sin embargo, se requiere de un análisis más robusto para determinar su potencial como parámetro dosimétrico.
- 6.- La exposición a RI no altera el patrón de expresión de miR-34a-5p en suero sanguíneo del POERI sinaloense.
- 7.- No se asocia la expresión de miR-34a-5p con la cantidad de ICH, no obstante, se precisa mayor investigación en la relación que existe entre la expresión del miRNA y la regulación de la reparación por HR, así como su rol en la respuesta inmunológica.

XII. PERSPECTIVAS

- Realizar seguimiento al POERI analizado mediante el análisis bioquímico, hematológico, citogenético y molecular.
- Analizar con el enfoque de ICH a POERI de las 3 áreas de aplicación médica (radiodiagnóstico, medicina nuclear y radioterapia) de la radiación ionizante.
- Recopilar datos de dosimetría mediante lecturas de dosímetro de los participantes POERI.
- Incluir en la investigación a pacientes que hayan recibido radioterapia, al igual que a personal administrativo que labore en zonas circunvecinas al área de manejo de radiación ionizante.
- Ampliar el análisis de biomarcadores citogenéticos como aberraciones cromosómicas y el ensayo cometa, al igual que biomarcadores moleculares.
- Realizar un ensayo bioinformático para identificar potenciales miRNAs de respuesta ante la exposición a RI.
- Analizar perfil inmunológico de los sujetos de estudio.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. EPA. Radiation Basics. In: Agency USEP, editor. 2023.
2. OSHA. Ionizing radiation- Health Effects. In: Administration OSH, editor. www.OSHA.gov.
3. Land C. ionizing radiation. Encyclopedia Britannica 2023.
4. Pajic J, Rovcanin B. Ionizing radiation-induced genotoxic and oxidative damage in peripheral lymphocytes and plasma of healthy donors. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2021;863:503313.
5. Agency UHS. Medical radiation: uses, dose measurements and safety advice. GOVUK. 2022.
6. Social SdTyP. NORMA Oficial Mexicana NOM-012-STPS-1999. 2012.
7. Gobernación Sd. NORMA Oficial Mexicana NOM-229-SSA1-2002, Salud ambiental. Requisitos técnicos para las instalaciones, responsabilidades sanitarias, especificaciones técnicas para los equipos y protección radiológica en establecimientos de diagnóstico médico con rayos X. In: Salud Sd, editor. 2006.
8. Baudin C, Bernier M-O, Klovov D, Andreassi MG. Biomarkers of genotoxicity in medical workers exposed to low-dose ionizing radiation: systematic review and meta-analyses. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(14):7504.
9. Puerta-Ortiz JA, Morales-Aramburo J. Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes. Revista Colombiana de Cardiología. 2020;27:61-71.
10. Montazerinezhad S, Emamjomeh A, Hajieghrari B. Chromosomal abnormality, laboratory techniques, tools and databases in molecular Cytogenetics. Molecular Biology Reports. 2020;47:9055-73.

11. Lampurlanés XS, Malo MRH. NTP 354: Control biológico de la exposición a genotóxicos: técnicas citogenéticas.
12. Tug E, Kayhan G, Kan D, Guntekin S, Ergun M. The evaluation of long-term effects of ionizing radiation through measurement of current sister chromatid exchange (SCE) rates in radiology technologists, compared with previous SCE values. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013;757(1):28-30.
13. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(5):5451-65.
14. Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2018;141(4):1202-7.
15. Pozniak T, Shcharbin D, Bryszewska M. Circulating microRNAs in Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(7):3996.
16. Halimi M, Shahabi A, Moslemi D, Parsian H, Asghari SM, Sariri R, et al. Human serum miR-34a as an indicator of exposure to ionizing radiation. *Radiation and environmental biophysics*. 2016;55:423-9.
17. Małachowska B, Tomasik B, Stawiski K, Kulkarni S, Guha C, Chowdhury D, et al. Circulating microRNAs as biomarkers of radiation exposure: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*. 2020;106(2):390-402.
18. Sánchez-Alarcón J, Milić M, Kašuba V, Tenorio-Arvide MG, Montiel-González JMR, Bonassi S, et al. A systematic review of studies on genotoxicity and related biomarkers in populations exposed to pesticides in Mexico. *Toxics*. 2021;9(11):272.

19. Cornejo JN, Puceiro AJL. Las radiaciones ionizantes en los Anales de la Sociedad Científica Argentina (1895-1910). *Epistemología e Historia de la Ciencia*. 2020;5(1):26-40.
20. OSHA. Ionizing Radiation. In: Administration OSaH, editor.: United States Department of Labor
21. Morales-Aramburo J, Puerta JA. Bases físicas de la radiación ionizante. *Revista Colombiana de Cardiología*. 2020;27:32-40.
22. Novusmed. ¿Qué es la radiación? 2023 [
23. OMS. Radiaciones ionizantes: efectos en la salud y medidas de protección. In: Salud OMdl, editor. 2023.
24. Ávila-Rodríguez MÁ, Rivera-Bravo B, Kerik-Rotenberg NE, Vallejo E, Herranz-Carnero M, Buelna-Cano C. Estado actual y perspectivas de la imagen molecular PET en México. *Gaceta médica de México*. 2019;155(4):436-44.
25. INSST. “Higiene industrial”. In: Trabajo INdSeHee, editor. 2023.
26. Social SdTyP. NORMA Oficial Mexicana NOM-012-STPS-2012, Condiciones de seguridad y salud en los centros de trabajo donde se manejen fuentes de radiación ionizante. In: Social SdTyP, editor. 2012.
27. Diccionario médico. Radiosensibilidad.
28. FDA. Medical X-ray Imaging. In: ADMINISTRATION USFG, editor. 2022.
29. CSN. Uso de las radiaciones. In: Nuclear CdS, editor.
30. IAEA. Mejora de la protección radiológica en los procedimientos médicos que utilizan fluoroscopia. Organismo Internacional de Energía Atómica\}. 2022.
31. Medicina JH. Computed Tomography (CT) Scan.

32. Valencia-Calderón C, Calderón-Valdiviezo A, Muntané-Sánchez A, Bechich S, Oliveró-Rigau R, Segura-Cros C. Descripción y fundamentos del SPECT y el PET en el diagnóstico de la enfermedad cerebrovascular. *Rev Ecuat Neurol.* 2004;13(1-2):10.
33. Hughes JR, Parsons JL. FLASH radiotherapy: current knowledge and future insights using proton-beam therapy. *International journal of molecular sciences.* 2020;21(18):6492.
34. Efectos Biológicos [Internet]. 2018 [cited <http://www.uco.es/RiesgosLaborales/fisicoyquimico/radiaciones/tutorials/view/4-Efectos-biologicos#:~:text=Efectos%20probabilísticos%20o%20estocásticos,de%20alguna%20célula%20del%20organismo.>].
35. Estocástico, ca [Internet]. 2022.
36. OSHA. Ionizing Radiation. In: Administration OSaH, editor.: United States Department of Labor; 2023.
37. CIEMAT. Aspectos Genrales de la Interaccion de la Radiación con el Medio Biológico. In: Centro de Investigaciones Energéticas MyT, editor. Curso de SUPERVISORES de instalaciones radiactivas (IR) MÓDULO BÁSICO 2013.
38. Cherry Jr RN, Upton A, Lodde G, Porter Jr S. Radiación ionizante. Capítulo.
39. Szatkowska M, Krupa R. Regulation of DNA damage response and homologous recombination repair by microRNA in human cells exposed to ionizing radiation. *Cancers.* 2020;12(7):1838.
40. Jeong MA, Jeong RD. Applications of ionizing radiation for the control of postharvest diseases in fresh produce: recent advances. *Plant Pathology.* 2018;67(1):18-29.

41. Borrego-Soto G, Ortiz-López R, Rojas-Martínez A. Ionizing radiation-induced DNA injury and damage detection in patients with breast cancer. *Genetics and molecular biology*. 2015;38:420-32.
42. Ramos-Avasola S, Rivera D, Segura K, Thraves E, Durán A, Soto V, et al. Análisis citogenético en linfocitos de trabajadores expuestos a radiación ionizante en una unidad de cardiología intervencional de Chile: Estudio piloto y revisión de la literatura. *Revista chilena de cardiología*. 2020;39(1):8-15.
43. Mavragani IV, Nikitaki Z, Kalospyros SA, Georgakilas AG. Ionizing radiation and complex DNA damage: from prediction to detection challenges and biological significance. *Cancers*. 2019;11(11):1789.
44. Energía Sd. Reglamento General de Seguridad Radiologica D.O.F1988.
45. Energía Sd. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-026-NUCL-2011. In: Salvaguardias CNdSNy, editor. 2011.
46. Herate C, Sabatier L. Retrospective biodosimetry techniques: Focus on cytogenetics assays for individuals exposed to ionizing radiation. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2020;783:108287.
47. Álvarez ARi, P. Palacios, A. Delgado, L. Coto, N. Mori, Y. Dosímetros Personales. *Ocronos*. 2021;IV.
48. Troetsch B. Nivel de conocimientos en protección radiológica del personal expuesto a radiaciones ionizantes en un complejo hospitalario. *Panamá Intervencionismo*. 2019;19(3):103-10.
49. CDC. What is radiation? In: *Prevention CfDCa*, editor. 2022.

50. Lee WJ, Ko S, Bang YJ, Choe S-A, Choi Y, Preston DL. Occupational radiation exposure and cancer incidence in a cohort of diagnostic medical radiation workers in South Korea. *Occupational and Environmental Medicine*. 2021;78(12):876-83.

51. Güngördü N, Kurtul S, Özdil A, Erdoğan MS. Does occupational ionizing radiation exposure in healthcare workers affect their hematological parameters? *Archives of Environmental & Occupational Health*. 2022:1-8.

52. Heydarheydari S, Haghparast A, Eivazi M. A novel biological dosimetry method for monitoring occupational radiation exposure in diagnostic and therapeutic wards: from radiation dosimetry to biological effects. *Journal of Biomedical Physics & Engineering*. 2016;6(1):21.

53. Vaiserman A, Koliada A, Zabuga O, Socol Y. Health impacts of low-dose ionizing radiation: current scientific debates and regulatory issues. *Dose-Response*. 2018;16(3):1559325818796331.

54. Garzón Leal DC, Giraldo Luna CM, Peñates Ochoa AS, Yepes Boada A, Sánchez Calderón DC, Rojas Sánchez EM. Exposición ocupacional a radiaciones ionizantes y alteraciones hematológicas.

55. Liu N, Peng Y, Zhong X, Ma Z, He S, Li Y, et al. Effects of exposure to low-dose ionizing radiation on changing platelets: a prospective cohort study. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 2021;26(1):1-10.

56. Ismail AH, Abdulla KN. Biochemical and hematological study of the effects of annual exposure radiation doses on the operators of X-ray and CT-scan in some Erbil hospitals. *Radiation Physics and Chemistry*. 2021;184:109466.

57. Borzoueisileh S, Shabestani Monfared A, Ghorbani H, Mortazavi S, Zabihi E, Pouramir M, et al. Combined effects of radiofrequency electromagnetic fields and X-ray in renal tissue and function. *Research and reports in urology*. 2020;527-32.
58. Klaus R, Niyazi M, Lange-Sperandio B. Radiation-induced kidney toxicity: molecular and cellular pathogenesis. *Radiation oncology*. 2021;16(1):43.
59. Raghunathan S, Jaganade T, Priyakumar UD. Urea-aromatic interactions in biology. *Biophysical Reviews*. 2020;12(1):65-84.
60. Jung BC, Kim H-K, Kim SH, Kim YS. Triglyceride induces DNA damage leading to monocyte death by activating caspase-2 and caspase-8. *BMB reports*. 2023;56(3):166.
61. Ortiz LB. La sobrecarga de colesterol en el hígado induce el daño oxidante al ADN y acelera la hepatocarcinogénesis. 2017.
62. Seo E, Kang H, Choi H, Choi W, Jun HS. Reactive oxygen species-induced changes in glucose and lipid metabolism contribute to the accumulation of cholesterol in the liver during aging. *Aging cell*. 2019;18(2):e12895.
63. Nylander V, Ingerslev LR, Andersen E, Fabre O, Garde C, Rasmussen M, et al. Ionizing radiation potentiates high-fat diet–induced insulin resistance and reprograms skeletal muscle and adipose progenitor cells. *Diabetes*. 2016;65(12):3573-84.
64. Erol MK, Oztas S, Bozkurt E, Karakelleoglu S. Sister Chromatid Exchange Analysis and Chromosoma Aberration Studies in Interventional Cardiology Laboratory Workers One Year Follow up Study. *Japanese heart journal*. 2002;43(2):159-66.
65. Kinoshita E, van der Linden E, Sanchez H, Wyman C. RAD50, an SMC family member with multiple roles in DNA break repair: how does ATP affect function? *Chromosome research*. 2009;17:277-88.

66. Wang Z. Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signaling. *Cells*. 2021;10(12):3327.
67. Yang VW. The cell cycle. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 2018:197-219.
68. Israels E, Israels L. The cell cycle. *The oncologist*. 2000;5(6):510-3.
69. Ventura EAGA. *Cell cycle*. Elsevier. 2019.
70. Ligasová A, Frydrych I, Koberna K. Basic Methods of Cell Cycle Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(4):3674.
71. Hunt T, Nasmyth K, Novák B. The cell cycle. The Royal Society; 2011. p. 3494-7.
72. Ruíz VDC, Hernández RDU, de la Rosa GFZ. *Genética clínica: Editorial El Manual Moderno*; 2019.
73. Hustedt N, Durocher D. The control of DNA repair by the cell cycle. *Nature cell biology*. 2017;19(1):1-9.
74. Campos A, Clemente-Blanco A. Cell cycle and DNA repair regulation in the damage response: protein phosphatases take over the reins. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(2):446.
75. Shi C, Qin K, Lin A, Jiang A, Cheng Q, Liu Z, et al. The role of DNA damage repair (DDR) system in response to immune checkpoint inhibitor (ICI) therapy. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2022;41(1):268.
76. Cejka P, Symington LS. DNA end resection: mechanism and control. *Annual review of genetics*. 2021;55:285-307.
77. Waisertreiger I, Popovich K, Block M, Anderson KR, Barlow JH. Visualizing locus-specific sister chromatid exchange reveals differential patterns of replication stress-induced fragile site breakage. *Oncogene*. 2020;39(6):1260-72.

78. Zhou T, Yi F, Wang Z, Guo Q, Liu J, Bai N, et al. The functions of DNA damage factor RNF8 in the pathogenesis and progression of cancer. *International journal of biological sciences*. 2019;15(5):909.
79. Makharashvili N, Paull TT. CtIP: A DNA damage response protein at the intersection of DNA metabolism. *DNA repair*. 2015;32:75-81.
80. You Z, Bailis JM. DNA damage and decisions: CtIP coordinates DNA repair and cell cycle checkpoints. *Trends in cell biology*. 2010;20(7):402-9.
81. Heijink AM, Stok C, Porubsky D, Manolika EM, de Kanter JK, Kok YP, et al. Sister chromatid exchanges induced by perturbed replication can form independently of BRCA1, BRCA2 and RAD51. *Nature Communications*. 2022;13(1):6722.
82. Bonilla B, Hengel SR, Grundy MK, Bernstein KA. RAD51 gene family structure and function. *Annual review of genetics*. 2020;54:25-46.
83. Song Q, Hu Y, Yin A, Wang H, Yin Q. DNA Holliday junction: history, regulation and bioactivity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(17):9730.
84. Wyatt HD, West SC. Holliday junction resolvases. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2014;6(9):a023192.
85. Chavez Chuquipuima JK. Estimación de la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica en una población de alpacas (*Vicugna pacos* Linnaeus, 1758) en el distrito de Huachocolpa-Huancavelica. 2020.
86. Marchiset-Ferlay N, Savanovitch C, Sauvart-Rochat M-P. What is the best biomarker to assess arsenic exposure via drinking water? *Environment international*. 2012;39(1):150-71.
87. Tumini EA, A. The Sister-Chromatid Exchange Assay in Human Cells. In: Springer, editor. *Homologous Recombination* 2021.

88. Sonoda E, Sasaki MS, Morrison C, Yamaguchi-Iwai Y, Takata M, Takeda S. Sister chromatid exchanges are mediated by homologous recombination in vertebrate cells. *Molecular and cellular biology*. 1999;19(7):5166-9.

89. Jain AK, Singh D, Dubey K, Maurya R, Mittal S, Pandey AK. Models and methods for in vitro toxicity. *In vitro toxicology*: Elsevier; 2018. p. 45-65.

90. Wilson III DM, Thompson LH. Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2007;616(1-2):11-23.

91. Kumar JV, Saraswathi T, Ranganathan K, Umadevi K, Joshua E, Rooban T. Sister chromatid exchanges in smokers and smokers with alcohol habit. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2012;16(3):338-42.

92. Engin AB, Ergun MA, Yurtcu E, Kan D, Sahin G. Effect of ionizing radiation on the pteridine metabolic pathway and evaluation of its cytotoxicity in exposed hospital staff. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2005;585(1-2):184-92.

93. Cardoso RS, Takahashi-Hyodo S, Peitl Jr P, Ghilardi-Neto T, Sakamoto-Hojo ET. Evaluation of chromosomal aberrations, micronuclei, and sister chromatid exchanges in hospital workers chronically exposed to ionizing radiation. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis*. 2001;21(6):431-9.

94. Doukali H, Ben Salah G, Ben Rhouma B, Hajjaji M, Jaouadi A, Belguith-Mahfouth N, et al. Cytogenetic monitoring of hospital staff exposed to ionizing radiation: optimize protocol considering DNA repair genes variability. *International journal of radiation biology*. 2017;93(11):1283-8.

95. Condrat CE, Thompson DC, Barbu MG, Bugnar OL, Boboc A, Cretoiu D, et al. miRNAs as biomarkers in disease: latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis. *Cells*. 2020;9(2):276.
96. Wu Y, Li Q, Zhang R, Dai X, Chen W, Xing D. Circulating microRNAs: Biomarkers of disease. *Clinica Chimica Acta*. 2021;516:46-54.
97. Santulli G. *MicroRNA: Basic Science: From Molecular Biology to Clinical Practice*: Springer; 2015.
98. Giner M, Montoya M, Vázquez M, Miranda C, Miranda M, Pérez-Cano R. ¿ Qué son los microARNs?: Posibles biomarcadores y dianas terapéuticas en la enfermedad osteoporótica. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*. 2016;8(1):40-4.
99. Zolboot N, Du JX, Zampa F, Lippi G. MicroRNAs instruct and maintain cell type diversity in the nervous system. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2021;14:646072.
100. Miyoshi K, Miyoshi T, Siomi H. Many ways to generate microRNA-like small RNAs: non-canonical pathways for microRNA production. *Molecular Genetics and Genomics*. 2010;284:95-103.
101. Jin W, Wang J, Liu C-P, Wang H-W, Xu R-M. Structural basis for pri-miRNA recognition by Drosha. *Molecular cell*. 2020;78(3):423-33. e5.
102. Lamadrid-Romero M, Díaz-Martínez F, Molina-Hernández A. Los microRNA: una herramienta que podría ser usada como biomarcadores de la corticogénesis fetal. *Perinatología y reproducción humana*. 2014;28(3):146-53.
103. Jevsinek Skok D, Godnic I, Zorc M, Horvat S, Dovc P, Kovac M, et al. Genome-wide in silico screening for micro RNA genetic variability in livestock species. *Animal genetics*. 2013;44(6):669-77.

104. O'carroll D, Schaefer A. General principals of miRNA biogenesis and regulation in the brain. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(1):39-54.
105. Das K, Rao LVM. The Role of microRNAs in Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(24):15479.
106. Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, Lopez-Berestein G, Sood AK, Calin GA. MicroRNAs in body fluids—the mix of hormones and biomarkers. *Nature reviews Clinical oncology*. 2011;8(8):467-77.
107. Creemers EE, Tijssen AJ, Pinto YM. Circulating microRNAs: novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease? *Circulation research*. 2012;110(3):483-95.
108. Boon RA, Vickers KC. Intercellular transport of microRNAs. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2013;33(2):186-92.
109. Battistelli M, Falcieri E. Apoptotic bodies: particular extracellular vesicles involved in intercellular communication. *Biology*. 2020;9(1):21.
110. Jia M, Wang Z. MicroRNAs as biomarkers for ionizing radiation injury. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10.
111. Halimi M, Asghari SM, Sariri R, Moslemi D, Parsian H. Cellular response to ionizing radiation: A microRNA story. *International journal of molecular and cellular medicine*. 2012;1(4):178.
112. Li J, Shen Z, Chen W, Feng Z, Fang L, Zhao J, et al. Screening of miRNAs in white blood cell as a radiation biomarkers for rapid assessment of acute radiation injury. *Dose-Response*. 2022;20(3):15593258221123679.

113. Mao A, Liu Y, Zhang H, Di C, Sun C. microRNA expression and biogenesis in cellular response to ionizing radiation. *DNA and cell biology*. 2014;33(10):667-79.
114. Iliakis G, Wang Y, Guan J, Wang H. DNA damage checkpoint control in cells exposed to ionizing radiation. *Oncogene*. 2003;22(37):5834-47.
115. Li Y, Tong Y, Liu J, Lou J. The role of MicroRNA in DNA damage response. *Frontiers in Genetics*. 2022;13:850038.
116. Li W, Wang Y, Liu R, Kasinski AL, Shen H, Slack FJ, et al. MicroRNA-34a: potent tumor suppressor, cancer stem cell inhibitor, and potential anticancer therapeutic. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021;9:640587.
117. MIR34A microRNA 34a [Homo sapiens (human) [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/407040>.
118. Slabáková E, Culig Z, Remšík J, Souček K. Alternative mechanisms of miR-34a regulation in cancer. *Cell death & disease*. 2017;8(10):e3100-e.
119. May JM, Bylicky M, Chopra S, Coleman CN, Aryankalayil MJ. Long and short non-coding RNA and radiation response: a review. *Translational Research*. 2021;233:162-79.
120. Zeng H, Hu M, Lu Y, Zhang Z, Xu Y, Wang S, et al. MicroRNA 34a promotes ionizing radiation–induced DNA damage repair in murine hematopoietic stem cells. *The FASEB Journal*. 2019;33(7):8138-47.
121. Mature hsa-miR-34a-5p [Internet]. Available from: <https://www.mirbase.org/mature/MIMAT0000255>.
122. Stankevicius L, Almeida da Silva AP, Ventura dos Passos F, dos Santos Ferreira E, Menks Ribeiro MC, G David M, et al. MiR-34a is up-regulated in response to low dose, low energy X-ray induced DNA damage in breast cells. *Radiation oncology*. 2013;8:1-8.

123. Liu C, Zhou C, Gao F, Cai S, Zhang C, Zhao L, et al. MiR-34a in age and tissue related radio-sensitivity and serum miR-34a as a novel indicator of radiation injury. *International journal of biological sciences*. 2011;7(2):221.
124. Lacombe J, Zenhausem F. Emergence of miR-34a in radiation therapy. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2017;109:69-78.
125. ThermoFisher. TaqMan™ Advanced miRNA Assays
USER GUIDE 2023 [Available from: https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/100027897_TaqManAdv_miRNA_Assays_UG.pdf].
126. Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, bioinformatics and biomathematics*. 2013;3(3):71.
127. Eken A, Aydın A, Erdem O, Akay C, Sanal HT, Soykut B, et al. Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes of hospital staff occupationally exposed to low doses of ionizing radiation. *Toxicology and industrial health*. 2010;26(5):273-80.
128. Garibay García J, Castillo Cadena J. Intercambio de cromátides hermanas inducidos por el tratamiento en pacientes con cáncer de mama. 2013.
129. Santovito A, Cervella P, Delpero M. Increased frequency of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of radiology technicians chronically exposed to low levels of ionizing radiations. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2014;37(1):396-403.
130. Hussein MT, Ali AK, Mutta AJ. HPRT gene mutation, sister chromatid exchange and comet assay in peripheral lymphocytes of radiation laborers at Al-Amal Cancer Hospital in

Baghdad. International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive. 2022;3(1):001-7.

131. Tang M-s, Lee H-W, Weng M-w, Wang H-T, Hu Y, Chen L-C, et al. DNA damage, DNA repair and carcinogenicity: Tobacco smoke versus electronic cigarette aerosol. Mutation Research/Reviews in Mutation Research. 2022;789:108409.

132. Butler MG, Sanger WG, Veomett GE. Increased frequency of sister-chromatid exchanges in alcoholics. Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects. 1981;85(2):71-6.

133. Kotova N, Vare D, Schultz N, Gradecka Meesters D, Stepnik M, Grawé J, et al. Genotoxicity of alcohol is linked to DNA replication-associated damage and homologous recombination repair. Carcinogenesis. 2013;34(2):325-30.

134. Yuzbasioglu D, Mahmoud JH, Mamur S, Unal F. Cytogenetic effects of antidiabetic drug metformin. Drug and Chemical Toxicology. 2022;45(2):955-62.

135. Su T, Hou J, Liu T, Dai P, Qin L, Ding L, et al. MiR-34a-5p and miR-452-5p: the novel regulators of pancreatic endocrine dysfunction in diabetic Zucker rats? International Journal of Medical Sciences. 2021;18(14):3171.

136. Cala A, Ahmed MS, Menon VB, Pereira AB, Kirsztajn GM, Heilberg IP. Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2008;3(2):348-54.

137. Silva RG, Islam T, de Carvalho RM, Alencar MVOB, de Aguiar RPS, da Mata AMOF, et al. Toxicogenetic biomonitoring of workers to the ionizing radiation. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016;10(29):604-13.

138. Serhatlioğlu S, Oğur E, Ozan AT, Gürsu F, Gödekmerdan A, Ayar A. Biochemical and immunological effects of ionizing radiation in radiology staff members. *Tanışal ve Girişimsel Radyoloji: Tibbi Görüntüleme ve Girişimsel Radyoloji Derneği Yayın Organı*. 2004;10(2):97-102.
139. Rezaei B, Zahabi SS, Salehi A, Hemmatpour B. Evaluation of biochemical parameters in operating room staff exposed to radiation and anesthetic gases. *Annals of Medicine and Surgery*. 2023;85(11):5439-44.
140. Yang Y, Wu Y, Sun X-D, Zhang Y. Reactive oxygen species, glucose metabolism, and lipid metabolism. *Oxidative Stress: Human Diseases and Medicine*. 2021:213-35.
141. Roman YM. The role of uric acid in human health: insights from the uricase gene. *Journal of Personalized Medicine*. 2023;13(9):1409.
142. NIH. Uric acid. In: Institute NC, editor.
143. Paithankar JG, Kudva AK, Raghu SV, Patil RK. Radioprotective role of uric acid: evidence from studies in *Drosophila* and human dermal fibroblast cells. *Molecular Biology Reports*. 2020;47(4):2427-36.
144. Vicente E, Vujaskovic Z, Jackson IL. A systematic review of metabolomic and lipidomic candidates for biomarkers in radiation injury. *Metabolites*. 2020;10(6):259.
145. Lenarczyk M, Kronenberg A, Mäder M, North PE, Komorowski R, Cheng Q, et al. Age at exposure to radiation determines severity of renal and cardiac disease in rats. *Radiation research*. 2019;192(1):63-74.

146. Patel S, Patel S, Kotadiya A, Patel S, Shrimali B, Joshi N, et al. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. *Laboratory Animal Research*. 2024;40(1):7.
147. Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H. Effect of aging on serum uric acid levels: longitudinal changes in a large Japanese population group. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2002;57(10):M660-M4.
148. Shih S-R, Tseng C-H. The effects of aging on glucose metabolism. *Taiwan geriatrics & gerontology*. 2009;4(1):27-38.
149. Bahrami Asl F, Islami-Seginsara M, Ebrahimi Kalan M, Hemmatjo R, Hesam M, Shafiei-Irannejad V. Exposure to ionizing radiations and changes in blood cells and interleukin-6 in radiation workers. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023;30(13):35757-68.
150. Surniyantoro H, Rahardjo T, Lusiyananti Y, Rahajeng N, Sadewa A, Hastuti P, et al. Assessment of ionizing radiation effects on the hematological parameters of radiation-exposed workers. *Atom Indonesia*. 2019;45(2):123-9.
151. Ngoubangoye B, Dibakou SE, Otsaghe Ekore D, Tsoumbou TAG, Moussadji Kinga IC, Yanagha F, et al. The Influence of Age, Sex, and Season on Hematological Parameters in a Captive Population of Former Laboratory Chimpanzees (*Pan troglodytes*). *American Journal of Primatology*. 2025;87(1):e23703.
152. Mandala WL, Gondwe EN, MacLennan JM, Molyneux ME, MacLennan CA. Age- and sex-related changes in hematological parameters in healthy Malawians. *Journal of blood medicine*. 2017:123-30.
153. Eastmond D. *Sister Chromatid Exchange*. Elsevier. 2023.

154. Kuchi Bhotla H, Balasubramanian B, Rengasamy KR, Arumugam VA, Alagamuthu KK, Chithravel V, et al. Genotoxic repercussion of high-intensity radiation (x-rays) on hospital radiographers. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2023;64(2):123-31.
155. Margolin BH, Shelby MD. Sister chromatid exchanges: A reexamination of the evidence for sex and race differences in humans. *Environmental mutagenesis*. 1985;7(S4):63-72.
156. Fischer KE, Riddle NC. Sex differences in aging: genomic instability. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2018;73(2):166-74.
157. Taqi AH, Faraj KA, Zaynal SA, Hameed AM, Mahmood A-AA. Effects of occupational exposure of x-ray on hematological parameters of diagnostic technicians. *Radiation Physics and Chemistry*. 2018;147:45-52.
158. Chauhan J, Stavrika C, Grandits M, Palhares LC, Josephs DH, Lacy KE, et al. Clinical and translational significance of basophils in patients with cancer. *Cells*. 2022;11(3):438.
159. Adliene D, Gričienė B, Skovorodko K, Laurikaitienė J, Puiso J. Occupational radiation exposure of health professionals and cancer risk assessment for Lithuanian nuclear medicine workers. *Environmental research*. 2020;183:109144.
160. Tang G, Woods LJ, Wang SA, Brettler D, Andersen M, Miron PM, et al. Chronic basophilic leukemia: a rare form of chronic myeloproliferative neoplasm. *Human pathology*. 2009;40(8):1194-9.
161. He X, Yang A, McDonald DG, Riemer EC, Vanek KN, Schulte BA, et al. MiR-34a modulates ionizing radiation-induced senescence in lung cancer cells. *Oncotarget*. 2017;8(41):69797.

162. Huber C, Elsaeed O, Lahmer P, Moertl S. Ionizing radiation effects on blood-derived extracellular vesicles: insights into miR-34a-5p-mediated cellular responses and biomarker potential. *Cell Communication and Signaling*. 2024;22(1):471.
163. Kabacik S, Manning G, Raffy C, Bouffler S, Badie C. Time, dose and ataxia telangiectasia mutated (ATM) status dependency of coding and noncoding RNA expression after ionizing radiation exposure. *Radiation research*. 2015;183(3):325-37.
164. Gupta S, Sharma RS, Singh R. Non-ionizing radiation as possible carcinogen. *International Journal of Environmental Health Research*. 2022;32(4):916-40.
165. Lambert S, Lopez BS. Role of RAD51 in sister-chromatid exchanges in mammalian cells. *Oncogene*. 2001;20(45):6627-31.
166. Cortez MA, Valdecanas D, Niknam S, Peltier HJ, Diao L, Giri U, et al. In vivo delivery of miR-34a sensitizes lung tumors to radiation through RAD51 regulation. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*. 2015;4.
167. Leidinger P, Backes C, Dahmke IN, Galata V, Huwer H, Stehle I, et al. What makes a blood cell based miRNA expression pattern disease specific?-A miRNome analysis of blood cell subsets in lung cancer patients and healthy controls. *Oncotarget*. 2014;5(19):9484.
168. Alwani A, Andreasik A, Szatanek R, Siedlar M, Baj-Krzyworzeka M. The role of miRNA in regulating the fate of monocytes in health and cancer. *Biomolecules*. 2022;12(1):100.
169. Hart M, Nickl L, Walch-Rueckheim B, Krammes L, Rheinheimer S, Diener C, et al. Wrinkle in the plan: miR-34a-5p impacts chemokine signaling by modulating CXCL10/CXCL11/CXCR3-axis in CD4+, CD8+ T cells, and M1 macrophages. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2020;8(2).

170. Patysheva M, Frolova A, Larionova I, Afanas' ev S, Tarasova A, Cherdyntseva N, et al. Monocyte programming by cancer therapy. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:994319.

XIV. SIGLAS Y ABREVIACIONES

53BP1: del inglés Tumor suppressor p53-binding protein 1

AA: del inglés Acetaldehyde

AC: Aberración cromosómica

AGO: Argonauta

ATM: del inglés Ataxia-telangiectasia mutated

AU: Ácido úrico

BCL2: del inglés B-cell lymphoma 2 protein

BH: Biometría hemática

BLM: del inglés BLM helicase

BRCA1: del inglés Breast cancer type 1 susceptibility protein

BRCA2: del inglés Breast cancer type 1 susceptibility protein

BrdU: 5-Bromodesoxiuridina

BUN: del inglés Blood urea nitrogen

CDK: proteínas quinasa dependientes de ciclinas

cDNA: DNA complementario

CEI-FM UAS: Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa

CG: Citosina-Guanina

CONAHCyT: Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías

CONFÍE: Científica e Innovación del Estado de Sinaloa

Cr: Creatinina

CT: del inglés Computed tomography

Ct: del inglés *cycle threshold*

CtIP: del inglés C-terminal binding protein 1 (CtBP1) interacting protein

CTRL: Control

DDR: del inglés DNA Damage Response

DGCR8: del inglés double-stranded DNA-binding protein

DNA: del inglés Deoxyribonucleic Acid

DSB: del inglés Double Strand Breaks

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EPP: Equipo de Protección Personal

EXO1: del inglés Exonuclease 1

Fase M: del inglés Mitosis

FG: Fold Change

FOXP1: del inglés forkhead box P1

G1: del inglés Gap 1

G2: del inglés Gap 2

Gy: Gray

HDL: del inglés High Density Lipoprotein

HJ: del inglés Holliday Junction

HPRT: del inglés Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase 1

HR: del inglés Homologous recombination

ICH: Intercambio de Cromátidas Hermanas

ICRP: del inglés INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION

KCl: Cloruro de potasio

MCBM: Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular

MET: del inglés tyrosine-protein kinase MET

miR: microRNA

miR-Amp: Amplificación de miRNAs

miRs: microRNAs

MN: Micronúcleos

Mre11: del inglés double strand break repair nuclease

MRN: Mre11-RAD50-NBS1

mRNA: del inglés Messenger RNA

mSv: milisievert

MUS81: del inglés Crossover junction endonuclease MUS81

MYB: del inglés MYB proto-oncogene protein

NBS1: del inglés Nibrin

NHEJ: del inglés Non Homologous End Joining

Notch1: del inglés Neurogenic locus notch homolog protein 1

NPB: Puentes Nucleoplasmáticos

NPM1: nucleoformina 1

P53: del inglés tumor protein p53

PALB2: del inglés Partner And Localizer of BRCA2

PET: del inglés Positron emisión tomography

POERI: Personal ocupacionalmente expuesto a Radiación ionizante

pre-miRNA: del inglés precursor miRNA

pri-miRNA: de inglés Primary microRNAs

PTIP: del inglés Pax transcription activation domain-interacting protein

qPCR: PCR cuantitativa en tiempo real

RAE: Real Academia Española

RAN-GTP: del inglés monomeric GTP-binding protein

RI: Radiación Ionizante

RIF1: del inglés replication timing regulatory factor 1

RISC: del inglés RNA induced silencing complex

RMI1: del inglés RecQ mediated genome instability 1

RMI2: del inglés RecQ mediated genome instability 2

RNA: del inglés Ribonucleic Acid

RNF168: del inglés (RING) finger protein 168

RNF8: del inglés (RING) finger protein 8

RNS: del inglés Reactive nitrogen species

ROS: del inglés Reactive oxygen species

RPA: del inglés Human replication protein A

RT-PCR: del inglés Reverse transcription polymerase chain reaction

S: del inglés Synthesis

SIRT1: del inglés Sirtuin 1

SMP: del inglés structural maintenance of chromosome

SPECT: del inglés Single Photon Emission Computed Tomography

SSB, del inglés Single-Strand Breaks

ssDNA: del inglés single-stranded-DNA

SST: del inglés Gold-top serum separator

STAI1: del inglés diamine acetyltransferase 1

Sv: Sievert

TRBP: del inglés Transactivation response RNA binding protein

UPSIN: Universidad Politécnica de Sinaloa

UTR: del inglés Untranslated Region

XPO5: del inglés exportin-5

XV. ANEXOS

XV.1. Documentos complementarios

XV.1.1. ANEXO 1. Formato de consentimiento informado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE MEDICINA - LABORATORIO DE GENÉTICA.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA:

Uso de información personal, clínica, medición antropométrica y toma de muestra de sangre.

Estimado(a) Participante: _____ No registro: _____

Introducción/Objetivo:

El Laboratorio de Genética perteneciente a la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa, realiza el proyecto titulado: "Análisis de biomarcadores citogenéticos y moleculares asociados a daño al DNA en Personal Ocupacionalmente Expuesto a Radiación Ionizante (POERI)". El objetivo del estudio es asociar biomarcadores citogenéticos y moleculares relacionados al daño al DNA en POERI originarios del estado de Sinaloa.

Procedimientos:

Si usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente:

- Proporcionará información personal y clínica, a través de una encuesta. La encuesta consistirá en las siguientes secciones: datos generales, antropometría (resultados de evaluación), actividad física, consumo de tabaco, consumo de alcohol, nivel socioeconómico, antecedentes patológicos, antecedentes laborales, y antecedentes heredo-familiares. Este procedimiento será de manera paralela a una valoración médica general.
- Se le realizarán mediciones antropométricas con un estadiómetro (talla), cinta métrica (circunferencias) y equipo de impedancia eléctrica (para medir %grasa, masa muscular, IMC entre otras); procedimientos que no comprometen su estado de salud y que ayudarán a entender mejor su estado antropométrico con fines de investigación.
- Se le hará una toma de muestra sanguínea periférica (antebrazo) de dos tubos de 6 ml y una muestra de orina para determinación de los análisis clínicos que comúnmente se les realizan para monitoreo general de POERI y/o controles (BH, QS, EGO).
- En la misma punción en el brazo se tomarán tres tubos de 6 ml de sangre más con la finalidad de obtener suero, plasma y paquete globular que serán utilizados para determinar biomarcadores citogenéticos y moleculares. Dichas muestras formarán parte de un banco de sueros/plasma y ADN genómico de POERI y/o controles.
- En el caso de la orina, se le proporcionará, previamente, para que dicha muestra se le pedirán las siguientes indicaciones: deberá ser la primera orina de la mañana recolectada a partir de la mitad del chorro después de haber orinado un poco en el sanitario.

Beneficios: Todo estudio es gratuito y con su participación en esta investigación se le proporcionarán resultados del análisis antropométrico y de los análisis clínicos (BH, QS y EGO). Así mismo, contribuirá con los investigadores responsables en la generación de conocimiento que contribuya al desarrollo de estrategias de prevención.

Confidencialidad: Toda la información que proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Quedará identificado con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado(a).



Riesgos Potenciales/Compensación: Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Si alguna de las preguntas le hiciera sentir un poco incómodo(a), tiene el derecho de no responder. En la toma de muestra de sangre, puede haber un riesgo mínimo como un pequeño moretón y/o pequeño dolor en el momento de la toma. Se le hace notificar que el material que se utilizará es nuevo y desechable. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implica algún costo para usted.

Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación de este en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en cómo le tratan al acudir a su atención médica.

Números a Contactar: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el/la investigador/a responsable del proyecto: Dra. Verónica Judith Picos Cárdenas (6671170454), Lic. en Biomedicina Liliana Itzel Patrón Baro (6673052460), Lic. Médico general Nayeli Nieto Marín (6672088651). Si usted acepta participar en el estudio, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

CONSENTIMIENTO PARA SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Su firma indica su aceptación para participar voluntariamente en el presente estudio.

<p>Nombre del participante:</p> <p>_____</p> <p>No. Registro (Dato propuesto por laboratorio) : ___ Fecha: ___/___/___ Firma*: _____</p> <p><small>*En caso de incapacidad para firmar, firma del tutor o familiar.</small></p>
<p>Nombre Completo del Testigo:</p> <p>_____</p> <p>Dirección _____</p> <p>Fecha: ___/___/___ Relación con el participante _____ Firma: _____</p>
<p>Nombre de la persona que obtiene el consentimiento:</p> <p>_____</p> <p>Fecha: ___/___/___ Relación con el participante _____ Firma: _____</p>

XV.1.2. ANEXO 2. Formato de historia clínica y laboral



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE MEDICINA - LABORATORIO DE GENÉTICA

PROYECTO: *Análisis de Biomarcadores Citogénéticos y Moleculares Asociados a Daño al DNA en Personal Ocupacionalmente Expuesto a Radiación Ionizante.*

CUESTIONARIO HISTORIA CLÍNICA

DATOS GENERALES							
Fecha: ___/___/___				Nombre:			
Registro:				Domicilio:			
Escolaridad:							
Ocupación:							
Fecha de Nacimiento: ___/___/___				Lugar de Nacimiento:			
Edad:		Estado civil:		Lengua:			
E-mail:		Tel. particular:		Tel. celular:			
DATOS ANTROPOMÉTRICOS							
Estatura (cm):		Peso corporal (Kg):		IMC (Kg/m ²):			
ANTECEDENTES LABORALES							
Actividad laboral: _____ Tiempo trabajando en el lugar con exposición a radiaciones: _____ Equipo utilizado: Rx _____ TAC _____ Otros _____ Edad de inicio POERI: _____						Comentarios	
Exposición a formaldehído, solventes orgánicos, gases anestésicos y medicamento para cáncer: Sí ___ No ___ Especifique: _____							
ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES							
	Padre	Abuelo Paterno	Abuela Paterna	Madre	Abuelo Materno	Abuela Materna	Hermanos/as
Cáncer							
Hematológicos							
Tiroides							
LU							
Crónicas (DM)							
Otra patología							
CONSUMO TABACO							
1. ¿Actualmente fuma? SI ___ NO ___	2. ¿Ha fumado por más de 6 meses alguna vez en su vida? SI ___ NO ___	3. Período durante el cual fumó:	4. ¿Cuánto tiempo pasa entre que se levanta y fuma su primer cigarrillo? ___ 5 minutos (3 pts.) f ___ Entre 6 y 30 minutos (2 pts.) ___ De 31 - 60 minutos (1 pts.) f ___ Más de 60 minutos (0 pts.)				
5. ¿Encuentra difícil no fumar en lugares donde está prohibido? ___ Sí (1 pts.) f ___ No (0 pts.)	6. ¿Qué cigarrillo le molesta más dejar de fumar? f ___ El primero de la mañana. (1 pts.) f ___ Cualquier otro (0 pts.)	7. ¿Cuántos cigarrillos fuma cada día? f ___ 10 ó menos (0 pts.) ___ 11 - 20 (1 pts.) f ___ 21 - 30 (2 pts.) ___ 31 o más (3 pts.)	8. ¿Fuma con más frecuencia durante las primeras horas después de levantarse que durante el resto del día? f ___ Sí (1 pts.) f ___ No (0 pts.)				
Fagerström Score:		Índice Tabáquico:					
OBSERVACIONES:							
CONSUMO ALCOHOL							
1. ¿Actualmente consume alcohol? SI ___ NO ___	2. ¿Ha consumido alcohol alguna vez en su vida? SI ___ NO ___	3. ¿Hace cuánto tiempo empezó a consumir alcohol? ___ Menos de 1 año ___ 1 año ___ Más de 1 año ___ Entre 3 y 5 años ___ Más de 5 años ___ Más de 10 años					
4. ¿Cual es o era su consumo de alcohol? ___ Diariamente ___ Semanalmente ___ Mensualmente ___ Ocasional		Especifique Bebida _____ Cantidad _____ Frecuencia _____					
OBSERVACIONES:							



ACTIVIDAD FÍSICA	
¿Realiza algún tipo de actividad física? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	¿De qué tipo? (aeróbica/resistencia)
Veces por semana:	Minutos al día:
ANTECEDENTES PATOLÓGICOS	
Toxicomanías: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique: _____	
Alergias: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique: _____	
Cáncer: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique: _____ Tratamiento: _____	
Enfermedad Congénita : Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique: _____	
Enfermedad Crónico Degenerativa: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique: _____ Tratamiento: _____	
Enfermedad actual: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique: _____ Tratamiento: _____	
GINECO-OBSTÉTRICOS	
Es periodo regular: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique _____	
Anticonceptivos: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Especifique _____	
Climaterio/Menopausia: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Edad: _____ Tratamiento: _____	

XV.1.3. ANEXO 3. Química sanguínea de 6 elementos de participantes Femeninos.

VARIABLE/ POBLACIÓN	Glucosa	Urea	Nitrógeno Ureico	Creatinina	Ácido Úrico	Colesterol	Triglicéridos
F CTRL	81.21 ± 12.55	25.64 ± 6.68	11.98 ± 3.12	0.76 ± 0.12	4.25 ± 2.06	167.5 ± 28.32	78.99 ± 32.28
F POERI	91.88 ± 23.42	25.79 ± 8.13	12.03 ± 3.76	0.72 ± 0.14	4.12 ± 1.03	183.3 ± 40.28	127.3 ± 125.5
<i>p</i>	0.74 (NS ^φ)	0.83 (NS [#])	0.84 (NS [#])	0.64 (NS ^φ)	0.84 (NS ^φ)	0.41 (NS [#])	0.46 (NS ^φ)

Los valores están representados como la media ± D. E. (desviación estándar)

[^]Valores fuera de rango de referencia

[#]t student

^φWilcoxon

Se presentan las medias o medianas, según sea el caso, de cada variable analizada en la química sanguínea de participantes femeninos (F) de ambos grupos de estudio, la totalidad de las variables se encuentran dentro de límites de referencia y no se evidenció diferencia estadísticamente significativa en ningún parámetro.

Método estadístico: *t* student y prueba de Wilcoxon.

XV.1.4. ANEXO 4. Química sanguínea de 6 elementos de participantes Masculinos.

VARIABLE/ POBLACIÓN	Eritrocitos	Hemoglobina	Hematocrito	VCM	HbCM	Conc. HbCM	Plaquetas
M CTRL	4.96 ± 0.40	14.85 ± 1.25	44.92 ± 3.39	90.59 ± 4.32	30.21 ± 1.62	33.33 ± 0.78	244.5 ± 41.26
M POERI	5.10 ± 0.36	15.45 ± 0.86	46.51 ± 2.91	91.13 ± 3.00	30.32 ± 1.42	33.25 ± 0.79	243.9 ± 34.53
P	0.39 (NS [#])	0.20 (NS [#])	0.23 (NS [#])	0.70 (NS [#])	0.86 (NS [#])	0.80 (NS [#])	0.96 (NS [#])

VARIABLE/ POBLACIÓN	Índice de dist. eritrocito	Vol. Med. plaquetas	Leucocitos total	Leucocitos diferenciales				
				Segmentados	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos
M CTRL	13.05 ± 1.04	11.13 ± 0.98 [^]	6.40 ± 1.52	3.49 ± 0.93	2.24 ± 0.57	0.38 ± 0.08	0.26 ± 0.25	0.016 ± 0.008
M POERI	12.83 ± 0.88	11.07 ± 0.92 [^]	6.36 ± 1.72	3.57 ± 1.40	2.13 ± 0.51	0.38 ± 0.10	0.26 ± 0.26	0.010 ± 0.007
P	0.49 (NS ^φ)	0.70 (NS ^φ)	0.89 (NS ^φ)	0.85 (NS ^φ)	0.45 (NS ^φ)	0.77 (NS ^φ)	0.96 (NS ^φ)	0.08 (NS ^φ)

Los valores están representados como la media ± D. E. (desviación estándar)

[^]Valores fuera de rango de referencia

[#]t student

^φWilcoxon

Se presentan las medias o medianas, según sea el caso, de cada variable analizada en la biometría hemática de los Masculinos (M) de ambos grupos de estudio, es destacable que la media de volumen medio de plaquetas en ambos grupos está por encima del valor de referencia utilizado en el laboratorio de análisis clínicos.

Método estadístico: *t* student y prueba de Wilcoxon.

XV.1.5. ANEXO 5. Química sanguínea de 6 elementos de participantes Femeninos.

VARIABLE/ POBLACIÓN	Eritrocitos	Hemoglobina	Hematocrito	VCM	HbCM	Conc. HbCM	Plaquetas
F CTRL	4.42 ± 0.35	12.74 ± 0.80	39.09 ± 1.99	88.50 ± 5.05	28.91 ± 2.05	32.62 ± 0.83	302.2 ± 77.16
F POERI	4.42 ± 0.31	13.16 ± 0.64	39.94 ± 1.92	90.53 ± 3.64	29.83 ± 1.34	32.95 ± 0.41	265.3 ± 32.21
P	0.57 (NS [#])	0.42 (NS [#])	0.23 (NS ^φ)	0.66 (NS [#])	0.74 (NS ^φ)	0.77 (NS [#])	0.17 (NS ^φ)

VARIABLE/ POBLACIÓN	Índice de dist. eritrocito	Vol. Med. plaquetas	Leucocitos total	Leucocitos diferenciales				
				Segmentados	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos
F CTRL	13.08 ± 1.13	11.01 ± 0.67	6.60 ± 1.37	4.03 ± 1.21	2.00 ± 0.51	0.35 ± 0.07	0.19 ± 0.15	0.200 ± 0.010
F POERI	12.79 ± 0.80	10.95 ± 0.93	6.88 ± 1.27	3.91 ± 0.95	2.40 ± 0.47	0.39 ± 0.08	0.15 ± 0.10	0.018 ± 0.008
P	>0.99 (NS ^φ)	0.88 (NS [#])	0.49 (NS [#])	0.95 (NS [#])	0.12 (NS [#])	0.25 (NS [#])	0.73 (NS [#])	0.76 (NS [#])

Los valores están representados como la media ± D. E. (desviación estándar)

^Valores fuera de rango de referencia

#t student

φWilcoxon

Se presentan las medias o medianas, según sea el caso, de cada variable analizada en la biometría hemática de los Femeninos (F) de ambos grupos de estudio, es destacable que la media de volumen medio de plaquetas en ambos grupos está por encima del valor de referencia utilizado en el laboratorio de análisis clínicos.

Método estadístico: *t* student y prueba de Wilcoxon.

XV.1.6. ANEXO 6. Análisis de asociación entre los niveles de tiempo de exposición a RI y parámetros hematológicos en el POERI.

Parámetro		Coefficiente de correlación	p
Tiempo de exposición a RI	Eritrocitos	0.062	0.77 (NS)
	Hemoglobina	0.097	0.65 (NS)
	Hematocrito	0.114	0.60 (NS)
	VCM	0.149	0.49 (NS)
	HbCM	0.087	0.69 (NS)
	Conc. HbCM	-0.053	0.80 (NS)
	Plaquetas	-0.073	0.73 (NS)
	Distribución de eritrocitos	0.198	0.36 (NS)
	Volumen medio de plaquetas	-0.223	0.30 (NS)
	Leucocitos totales	-0.303	0.15 (NS)
	Segmentados	-0.327	0.12 (NS)
	Linfocitos	-0.189	0.38 (NS)
	Monocitos	-0.299	0.16 (NS)
	Eosinófilos	0.350	0.10 (NS)
	Basófilos	0.350	0.10 (NS)

Resultados concentrados de la correlación entre el tiempo de exposición a RI y los parámetros analizados en la biometría hemática, no se mostraron variables destacables.

Método estadístico: Correlación de Pearson y correlación de Spearman

XV.1.7. ANEXO 7. Análisis de asociación entre la edad del POERI y parámetros hematológicos.

	Parámetro	Coefficiente de correlación	p
Edad del POERI	Eritrocitos	0.157	0.47 (NS)
	Hemoglobina	0.139	0.52 (NS)
	Hematocrito	0.166	0.44 (NS)
	VCM	0.003	0.98 (NS)
	HbCM	-0.043	0.84 (NS)
	Conc. HbCM	-0.100	0.64 (NS)
	Plaquetas	-0.026	0.90 (NS)
	Distribución de eritrocitos	0.277	0.19 (NS)
	Volumen medio de plaquetas	-0.150	0.49 (NS)
	Leucocitos totales	-0.282	0.19 (NS)
	Segmentados	-0.192	0.37 (NS)
	Linfocitos	0.110	0.61 (NS)
	Monocitos	-0.149	0.49 (NS)
	Eosinófilos	0.238	0.27 (NS)
Basófilos	-0.109	0.61 (NS)	

Resultados concentrados de la correlación entre la edad del POERI y los parámetros analizados en la biometría hemática, no se mostraron variables destacables.

Método estadístico: Correlación de Pearson y correlación de Spearman.

XV.1.8. ANEXO 8. Técnica de Intercambio de Cromátides Hermanas

Reactivos

- Medio de cultivo RPMI 1640
- BdrU
- Fitohemaglutinina
- Penicilina/estreptomicina
- Colchicina
- KCl 0.075 M
- Colorante Hoechst 33258
- PBS
- Colorante Giemsa
- Solución Carnoy (metanol y ácido acético 3:1)
- Agua destilada

Preparación de reactivos

PBS 4°C

- NaCl 8.0 gr
- KCl 0.2 gr
- Na₂PO₄ 1.15 gr
- H₂O cpb 1Lt

Giemsa stock

- Giemsa en polvo 1.0 gr
- Metanol 66.0 mL

- Glicerina 52.8 mL
- Mezclar a 60°C, madurar de 15-30 días y filtrar (proteger de la luz)

Giemsa trabajo Bandedo GTG

- Giemsa 3 mL
- Fosfatos 4 mL
- Ácido cítrico 2 mL
- Metanol 1 mL
- Agua destilada aforar a bisel del coplin

Colorante Hoechst 3358 (Garibay)

Solución Stock

- Pesar 0.025 g de Hoechst 33258 y disolverlo en 10 mL de Agua destilada.
- Hacer alícuotas de 1 ml de solución stock, congelar protegidas de la luz.

Solución de trabajo

- Tomar una alícuota de 1 mL y agregarla a 10 mL de agua destilada. Proteger de la luz

KCl 0.075M 37°C

- KCl 5.592 gr
- H₂O cbp 1 Lt

Bromodesoxiuridina (BrdU) (Garibay)

- Pesar 2 mg de BrdU por cada 10 mL de agua destilada. Concentración final: 10 µg/mL de cultivo.

Cultivo de linfocitos

1. Activar el flujo laminar de la campana.
2. En un tubo estéril de poliestireno de 15 mL agregar:
 - ❖ 5 mL de medio de cultivo RPMI 1640 GIBCO.
 - ❖ 0.5 mL de Suero Fetal Bovino.
 - ❖ 3 gotas de penicilina/estreptomicina.
 - ❖ 250 μ L de Fitohemaglutinina.
3. Dentro de la campana de flujo laminar previamente esterilizada tomar del tubo de muestra con tapa verde con heparina sódica 12 gotas de sangre periférica con una jeringa y agregarlas al tubo con el medio preparado.
4. Homogenizar por inmersión e incubar a 37°C por 24 horas en presencia del 5% de CO₂ dejando el tubo de manera inclinada para aumentar el área de contacto entre las células y el medio de cultivo.
5. A las 24 horas de iniciado:
 - ❖ Esterilizar la campana de flujo laminar con luz UV por 15 minutos y activar el flujo.
 - ❖ Agregar 250 μ L de BrdU a la muestra, homogenizar por inmersión lenta y cuidadosamente, acomodar inclinado en la incubadora y esperar 48 horas.

Cosecha

1. 45 minutos antes de las 72 horas adicionar 100 μ L de colchicina GIBCO e incubar 45 minutos a 37°C
2. Centrifugar el tubo por 3 minutos a 6000 rpm.
3. Extraer el sobrenadante hasta 2 ml, resuspender y agregar 8 mL de KCl 0.075 M.
4. Incubar durante 45 minutos a 37°C.

5. Aforar a 14 mL con solución Carnoy (metano y ácido acético 3:1) fría.
6. Agitar y centrifugar durante 3 minutos a 6000 rpm.
7. Extraer el sobrenadante hasta 2 mL, agitar en vórtex para resuspender mientras se agrega solución Carnoy aforando a 10 mL.
8. Dejar reposar 10 minutos en refrigeración a 4°C.
9. Centrifugar durante 4 minutos a 6000 rpm, desechar sobrenadante hasta 2 mL, resuspender el botón.
10. Aforar hasta 14 mL de solución Carnoy y centrifugar por 4 minutos. Repetir este paso hasta que el botón este limpio.
11. Extraer el sobrenadante hasta 2 mL, resuspender el botón y pasar a extender en laminillas.

Preparación de laminillas (Chávez)

1. Limpieza de portaobjetos con una torunda con solución fijadora por ambos lados.
2. Lavar con agua destilada.
3. Sumergirlas en una solución alcohol al 96%: agua destilada (1:1) puesta en el freezer a -20°C.
4. Una vez las laminillas estén frías y aun húmedas se procede a extender 2 gotas de botón limpio de la muestra con una pipeta Pasteur a una distancia de 30 cm aproximadamente entre la pipeta y el portaobjetos.
5. Ya extendidas las gotas se flamea el portaobjetos por el lado que no contiene la muestra, se hace de manera oscilatoria y confirmando que la temperatura no sobrepase lo soportado por la piel humana. Advertencia: La laminilla puede prenderse en fuego.
6. No quedan totalmente secas por lo que se secan al aire.

7. Madurar en oscuridad a temperatura ambiente y en total oscuridad durante 5 días.
Proceder a tinción después de maduración.

Tinción diferencial para ICH

1. Previamente madurado en oscuridad, se agregan 8 gotas de la solución de trabajo Hoechst 33258, se coloca un cubreobjetos cuidando de no crear burbujas y se deja incubar en oscuridad total durante 30 minutos.
2. Lavar las laminillas con agua destilada, se cubren con unas 12 gotas de PBS y cubreobjetos y se exponen a la luz ultravioleta a una intensidad $54,400 \times 100 \mu\text{J}$ en el Stratalinker durante 2.5 horas.
3. Lavar con agua destilada y se secar, se procede a teñir con el colorante Giemsa para bandeó GTG durante 5 minutos.
4. Lavar con abundante agua y se procede a secar con aire.
5. Observar al microscopio 20 metafases analizables.

XV.1.9. ANEXO 9. ICH por metafase de cada participante POERI

		ICH POERI																			MEDIA ICH	
		METAFASE																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		20
PARTICIPANTE	RI01	2	10	4	5	8	6	6	4	7	9	7	6	6	8	8	7	3	4	9	4	6.150
	RI02	10	4	8	10	6	3	7	6	6	7	8	5	8	7	4	5	8	11	9	6	6.900
	RI03	14	3	6	3	5	8	6	6	7	7	4	10	9	7	7	5	6	5	7	6	6.550
	RI04	6	7	3	9	7	2	2	8	5	4	4	7	8	7	6	2	9	4	10	6	5.800
	RI05	8	8	9	8	8	8	5	15	3	4	8	6	8	7	8	6	10	5	9	5	7.400
	RI06	10	6	7	7	7	9	8	8	11	5	1	11	2	10	9	10	4	16	9	3	7.650
	RI07	5	16	14	9	9	3	4	4	4	6	10	10	2	3	11	2	2	4	7	6	6.550
	RI08	11	6	5	4	3	9	9	7	7	11	8	6	4	3	5	12	8	6	10	11	7.250
	RI09	5	9	4	4	3	5	6	4	5	10	6	6	6	5	2	7	6	6	10	8	5.850
	RI10	4	10	5	8	3	8	8	7	6	7	12	10	7	11	8	8	9	5	9	7	7.600
	RI11	6	7	5	16	6	6	6	4	11	8	3	6	5	5	7	6	6	4	10	6	6.650
	RI12	8	8	10	6	7	9	4	8	13	9	12	7	10	7	9	9	7	8	4	6	8.050
	RI13	3	2	5	4	8	4	7	10	8	7	6	6	6	7	7	9	10	7	7	11	6.700
	RI14	18	5	11	7	8	6	5	6	7	5	9	9	6	6	5	6	8	10	9	8	7.750
	RI15	8	8	7	9	8	3	4	5	5	7	8	10	6	11	5	7	3	4	5	6	6.450
	RI16	4	7	7	10	6	6	12	6	9	5	12	9	12	7	10	4	7	7	6	14	8.000
	RI17	6	3	6	7	9	5	8	5	4	5	10	7	6	7	15	1	5	7	4	9	6.450
	RI18	13	4	7	7	4	4	7	11	2	7	5	3	5	5	7	7	2	7	4	13	6.200
	RI19	3	3	11	9	5	9	2	5	9	7	3	10	6	11	5	7	6	7	7	8	6.650
	RI20	3	8	8	2	6	5	9	12	5	6	5	4	5	10	4	10	5	7	5	9	6.400
	RI21	2	11	6	8	3	8	10	6	7	2	4	7	13	5	7	9	11	6	8	6	6.950
	RI22	6	4	14	6	4	8	4	9	5	8	4	8	10	8	9	9	10	9	10	8	7.650
	RI23	7	14	19	7	5	9	14	12	8	9	8	3	6	9	13	11	9	14	9	6	9.600
	RI24	13	8	5	6	8	8	9	8	6	8	9	10	9	7	11	4	3	4	10	6	7.600

Se plasma la cantidad de intercambio de cromátides hermanas encontrada en cada una de las veinte metafases analizadas por cada participante considerado POERI, los cuales tienen el código “RI” y el número de identificación. Se expone la media de ICH de cada voluntario. Es notable que el POERI con el código RI23 mostró la mayor cantidad de ICH por metafase analizada con una media de 9.600 (indicado en color rojo), mientras que el POERI RI04 presentó la menor media de ICH resultando en 5.800 (indicado en color amarillo)

XV.1.10. ANEXO 10. ICH por metafase de cada participante CTRL

		ICH CTRL																				MEDIA ICH
		METAFASE																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
PARTICIPANTE	CTRL01	7	9	4	4	7	5	5	7	1	6	4	4	8	6	10	8	7	3	6	3	5.700
	CTRL02	6	1	2	5	3	6	4	3	3	1	3	3	4	3	3	5	2	11	3	2	3.650
	CTRL03	6	4	1	1	2	9	2	3	2	5	3	2	3	3	2	3	5	7	6	4	3.650
	CTRL04	5	6	4	3	6	5	4	3	3	4	2	2	6	4	4	2	3	5	2	8	4.050
	CTRL05	6	4	3	8	6	4	9	10	3	7	6	2	6	6	5	11	7	6	2	11	6.100
	CTRL06	7	6	8	4	7	6	8	5	6	7	4	2	9	5	6	9	5	6	2	8	6.000
	CTRL07	3	6	5	9	7	5	5	8	8	6	4	2	3	8	7	7	2	5	3	3	5.300
	CTRL08	2	4	8	2	1	7	3	4	3	3	2	2	5	4	3	4	3	4	2	3	3.450
	CTRL09	4	2	5	6	8	7	9	6	5	6	7	2	10	7	4	7	3	4	8	5	5.750
	CTRL10	6	2	6	4	7	5	7	8	4	5	5	8	6	7	3	6	5	6	2	0	5.100
	CTRL11	5	5	2	3	3	3	7	8	2	3	6	5	3	3	11	2	6	1	4	3	4.250
	CTRL12	4	4	2	6	1	5	2	3	2	3	4	3	6	5	4	2	5	5	6	4	3.800
	CTRL13	4	6	6	7	3	4	12	5	3	5	9	8	2	2	7	2	5	6	3	6	5.250
	CTRL14	6	3	4	6	10	4	5	3	5	4	3	3	2	6	3	4	5	6	3	5	4.500
	CTRL15	9	7	4	6	6	6	4	3	7	10	7	6	12	8	8	10	8	7	6	8	7.100
	CTRL16	7	5	5	2	4	3	5	10	8	3	1	5	7	13	9	9	5	3	8	9	6.050
	CTRL17	4	5	2	5	6	6	10	13	2	3	3	5	4	3	9	4	3	4	8	3	5.100
	CTRL18	7	5	9	2	9	4	1	5	2	4	3	7	1	6	6	4	2	7	4	7	4.750
	CTRL19	5	5	5	6	4	3	3	7	8	4	2	2	5	2	7	5	2	5	6	7	4.650
	CTRL20	4	4	4	1	1	2	4	2	3	2	5	2	5	2	9	1	4	2	2	2	3.050
	CTRL21	4	4	4	7	3	1	1	3	6	5	2	4	3	3	2	2	1	2	3	2	3.100
	CTRL22	6	2	4	2	1	6	2	3	4	4	4	10	4	4	4	3	9	3	5	3	4.150
	CTRL23	2	1	3	3	5	4	4	2	3	5	10	8	8	4	8	5	9	4	3	6	4.850
	CTRL24	4	3	6	2	9	3	3	4	2	1	2	3	2	2	5	4	5	8	4		3.850

Se expresa la cantidad de intercambio de cromátides hermanas encontrada en cada una de las veinte metafases analizadas por cada participante considerado CTRL, los cuales tienen el código “CTRL” y el número de identificación. Se expone la media de ICH de cada voluntario. Es notable que el CTRL con el código CTRL15 mostró la mayor cantidad de ICH por metafase analizada con una media de 7.100 (indicado en color rojo), mientras que el CTRL20 presentó la menor media de ICH resultando en 3.050 (indicado en color azul)

XV.1.11. ANEXO 11. Relación consumo de tabaco y alcohol con la cantidad de ICH

A) Relación de consumo de tabaco y cantidad de ICH

Variables	ICH normal	ICH aumentada	
POERI Fumadores	0	4	4
POERI No Fumadores	0	20	20
	0	24	24

Resultado: $p=>0.9999$

No se expone significancia estadística en cuanto a la relación del consumo de tabaco y la cantidad de ICH.

Método estadístico: X^2 .

B) Relación de consumo de alcohol y cantidad de ICH

Variables	ICH normal	ICH aumentada	
POERI Alcohol	0	15	15
POERI No Alcohol	0	9	9
	0	24	24

Resultado: $p=>0.9999$

No se observa significancia estadística en cuanto a la relación del consumo de alcohol y la cantidad de ICH.

Método estadístico: X^2 .