

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD
COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA



**Efecto de la exposición a ortopantomografía en la
frecuencia de micronucleos en células de mucosa bucal de
pacientes pediátricos.**

Tesis

Para optar al título de:

Maestría en Salud Pública
Área Odontología Preventiva

Que presenta:

Emma Genoveva Aguiar Fuentes

Director de tesis

Dr. en C. Aurelio Flores García

Julio de 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD
COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA



**Efecto de la exposición a ortopantomografía en la
frecuencia de micronucleos en células de mucosa bucal de
pacientes pediátricos.**

Tesis

Para optar al título de:

Maestría en Salud Pública
Área Odontología Preventiva

Que presenta:

Emma Genoveva Aguiar Fuentes

Director de tesis

Dr. en C. Aurelio Flores García

Julio de 2011

RESUMEN

Antecedentes. La ortopantomografía (OP) es un estudio radiológico esencial en el diagnóstico y subsecuente tratamiento de las enfermedades bucodentales, entre las que se incluyen, caries dental, enfermedad periodontal y maloclusiones; las cuales constituyen un problema de salud pública en México. Asimismo, se ha establecido que la emisión de rayos X utilizadas en la toma de radiografías, causa daño cromosómico en las células, lo que a su vez representa un riesgo potencial para desarrollar cáncer.

Objetivo. Determinar la frecuencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa bucal de pacientes pediátricos expuestos a OP indicada con propósitos diagnósticos. Esto con el fin de determinar el posible daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) causado por la exposición a este estudio radiológico.

Metodología. La prueba de micronúcleos fue aplicada a células del epitelio bucal para determinar la frecuencia de MN en frotis de células bucales exfoliadas recolectadas de pacientes pediátricos expuestos a OP. Las muestras fueron obtenidas de 30 pacientes, 16 del sexo masculino y 14 del sexo femenino, con edades de 6 a 12 años. Se tomó una muestra antes de la exposición a OP y una segunda muestra 10 días después de la exposición a este estudio radiológico.

Resultados. El promedio de MN \pm Desviación Estándar (DE) antes y después de la exposición a OP fueron de 0.6 ± 0.3 y 1.7 ± 0.6 respectivamente, con una $p < 0.002$, evaluados por medio de la prueba estadística t pareada. Asimismo, en la función de densidad mediante el modelo de Poisson se observó que el riesgo de que un paciente pediátrico presente al menos 1 MN después de la exposición a una OP es de 32.72% contra un 12.16% antes de la exposición a OP.

Conclusiones. Estos resultados sugieren que la exposición a una OP en este grupo de pacientes pediátricos, induce formación significativa de micronúcleos en células exfoliadas de mucosa bucal, sin embargo, es necesario un seguimiento de estos pacientes para determinar el efecto de exposiciones a OP subsecuentes sobre la frecuencia de MN.

INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	6
2. MARCO TEÓRICO	
2.1 Ortopantomografía	8
2.1.1 Utilidad de la ortopantomografía en odontología	8
2.2 Teorías sobre el daño biológico causado por los rayos X	9
2.3 Clasificación de los efectos de la radiación de acuerdo al tiempo de exposición	10
2.4 Aspectos legales para la utilización de rayos X	10
2.5 Aspectos legales para la prevención y control de enfermedades bucales	12
2.6 Efecto de los rayos X sobre las células en población infantil	12
2.7 Detección de daño cromosómico	13
2.8 Micronúcleos	14
2.9 Cáncer asociado a la exposición a rayos X	15
2.10 Implicaciones sanitarias del uso de la prueba de micronúcleos	16
3. ANTECEDENTES	17
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	20
6. JUSTIFICACIÓN	21
7. OBJETIVOS	
7.1 Objetivo general	23
7.2 Objetivos específicos	23
8. HIPÓTESIS	24
9. METODOLOGÍA	
9.1 Tipo de estudio	24
9.2 Universo de estudio	24
9.3 Unidad de observación	24

9.4	Unidad de Análisis	25
9.5	Criterios de selección	25
9.5.1	Criterios de inclusión	25
9.5.2	Criterios de exclusión	25
9.5.3	Criterios de eliminación	25
9.6	Cuadro operacionalización de variables	26
9.7	Procedimientos para la recolección de información, instrumentos a utilizar y métodos para el control de calidad de los datos	27
9.8	Realización de la prueba de micronúcleos	27
9.9	Procedimientos para garantizar aspectos éticos en las investigaciones con sujetos humanos	28
9.10	Análisis estadístico para la prueba de hipótesis	29
10.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
11.	LIMITACIONES Y SEGOS	41
12.	CONCLUSIONES	42
13.	RECOMENDACIONES	42
14.	BIBLIOGRAFÍA	44
15.	ANEXOS	50

ABREVIATURAS.

ADN. Ácido Desoxirribonucleico.

CMN. Células micronúcleadas.

Fig. Figura.

INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.

LSP. Linfocitos de Sangre Periférica.

MN. Micronúcleos.

NOM. Norma Oficial Mexicana.

OMS. Organización Mundial de la Salud.

OP. Ortopantomografía.

SRA. Síndrome de Radiación Aguda.

1. INTRODUCCIÓN.

La ortopantomografía (OP) es un estudio radiológico esencial en el diagnóstico y subsecuente tratamiento de las enfermedades bucodentales, entre las que se incluyen, caries dental, enfermedad periodontal y maloclusiones; las cuales constituyen un problema de salud pública en México. La OP proporciona en una sola imagen la visualización de la totalidad del sistema dentomaxilar y de las estructuras contiguas, como las cavidades sinusales maxilares, el área mandibular y estructuras dentales.¹

Se ha reportado que la emisión de rayos X utilizada en la toma de radiografías puede causar daño cromosómico. Asimismo, se ha establecido que el daño en la estructura y/o número de cromosomas es considerado como un riesgo potencial de desarrollar cáncer^{2, 3, 4}. Esto es de gran importancia para las instituciones de salud ya que el cáncer es un problema de salud pública, puesto que la atención de un paciente con cáncer representa un alto costo para las instituciones de salud y para el Estado, además de deteriorar la calidad de vida de estos pacientes y sus familiares.

En lo que respecta a la OP, existe escasa información a nivel mundial sobre el daño cromosómico que pueda causar la radiación utilizada en este estudio de gabinete. Asimismo, en México no hay antecedentes de estudios previos que hayan investigado si la OP tomada a pacientes pediátricos causa daño al material genético de las células.

Por las razones antes mencionadas, es importante determinar si la exposición a los rayos X emitidos en una OP pueden causar daño cromosómico, ya que los resultados pueden ser útiles a las autoridades sanitarias, ya que se establecerían medidas preventivas adecuadas tendientes a minimizar el riesgo de desarrollar cáncer. De esta manera las instituciones de salud reducirían los costos anuales destinados para la atención de pacientes con cáncer, además, tanto el paciente así como su familia tendrían una mejor calidad de vida.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 Ortopantomografía.

La OP o radiografía panorámica es un estudio radiológico que utiliza la emisión de rayos X, la cual proporciona en una sola imagen la visualización de la totalidad del sistema dentomaxilar y de las estructuras contiguas, como las cavidades sinusales maxilares, el área mandibular y estructuras dentales.¹

2.1.1 Utilidad de la ortopantomografía en el área de odontología.

Es de importancia mencionar que la OP se ha convertido en un estudio radiológico de indicación muy frecuente en la práctica odontológica, ya que desempeña un papel esencial en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades bucodentales, entre las que se incluyen, caries dental, la enfermedad periodontal y las maloclusiones; las cuales constituyen un problema de salud pública en México, ya que deterioran la calidad de vida del paciente y representan un alto costo para las instituciones de salud y la familia.^{5,6}

La OP es altamente indicada en la población de infancia media y adolescencia⁷ para el análisis del desarrollo de la dentición, la observación de los gérmenes dentarios permanentes y su disposición en la arcada, alteraciones dentarias y problemas de erupción.⁸

Sin embargo, esta útil herramienta de diagnóstico implica la exposición del paciente a los rayos X.⁹ Al respecto, se ha reportado que la emisión de rayos X utilizada en la toma de radiografías puede causar daño cromosómico que a su vez representa un riesgo potencial de desarrollar cáncer.^{2,3,4}

2.2 Teorías sobre el daño biológico causado por los rayos X.

Teoría directa

Cuando los rayos X chocan de manera directa con una célula pueden causar daño al ADN de la misma.^{2,3}

Teoría indirecta

Cuando el agua intracelular absorbe los fotones de rayos X, se ioniza con formación de radicales libres que causan disfunción celular y daño biológico. La probabilidad de que se formen radicales libres y ocasionen lesiones indirectas es elevada, porque las células están compuestas de 70 a 80% de agua. Por tanto, es mayor la frecuencia de daño celular por este mecanismo sobre los diferentes elementos celulares.^{2,3}

2.3 Clasificación de los efectos de la radiación de acuerdo al tiempo de exposición.

Efectos a corto plazo

Son los efectos que se observan a los pocos minutos, días o semanas y se denominan efectos a corto plazo; están asociados con grandes cantidades de radiación absorbida durante un periodo corto de tiempo, (p. ej.: exposición a radiaciones por un accidente nuclear o la explosión de una bomba atómica). El síndrome de radiación aguda (SRA) es un efecto a corto plazo e incluye náuseas, vómito, diarrea, pérdida de cabello y hemorragia.^{2,10}

Efectos a largo plazo

Estos efectos son generados por las radiaciones de baja intensidad absorbidas de manera repetida en un periodo prolongado de tiempo. La exposición repetida a radiación de baja intensidad están ligados a daño cromosómico, el cual representa un riesgo potencial de desarrollar cáncer, anomalías al nacimiento y defectos genéticos.^{2,10}

2.4 Aspectos legales para la utilización de rayos X.

En México existe la regulación en el empleo de los rayos X por medio de NOM-157-SSA1-1996, salud ambiental, protección y seguridad radiológica en el diagnóstico médico con rayos X, la cual establece normas específicas para el

cuidado durante la toma de radiografías, por ejemplo, el numeral 5.7.2 establece hacer uso adecuado del equipo de protección, así como de los dispositivos de vigilancia radiológica individual que se le suministren.¹¹

Respecto a los cuidados con el paciente, el apartado 8.1 establece que sólo bajo prescripción médica se podrá exponer a un ser humano a las radiaciones producidas por un equipo de rayos X y nunca por decisiones de carácter administrativo o de rutina. Asimismo, el apartado 8.16, respecto a reducir la exposición del paciente, menciona que se debe utilizar en todos los estudios radiográficos la combinación compatible Chasis-Pantalla-Película-Procesador automática o manual, así como la compatibilidad del procesador automático con los químicos adecuados al procesador y al tipo de película.¹¹

En cuanto a la protección del público, el apartado número 9 hace mención de que solo en caso de pacientes con necesidades especiales pueden estar acompañados por alguien más durante la toma de la radiografía. Además, en el punto 9.3 se indica que en las zonas no controladas del establecimiento, los niveles de radiación durante la operación del equipo, deben ser adecuados para que ningún individuo reciba una dosis superior.¹¹

2.5 Aspectos legales para la prevención y control de enfermedades bucales.

La Norma Oficial NOM-013-SSA2-1994 indica en el 8.1 que el diagnóstico de las enfermedades bucales debe establecerse mediante la aplicación del método epidemiológico, el método clínico y los auxiliares diagnósticos cuando se juzgue necesario, confirmando esto en el numeral 8.3.1. f. en que los auxiliares de diagnóstico como estudios de gabinete y de laboratorio serán indicados de acuerdo con las necesidades del caso.¹²

2.6 Efectos de los rayos X sobre las células en población infantil.

En 1906, Bergonie y Tribondeau emitieron una ley radiobiológica que permanece vigente. Las células son más radiosensibles en las siguientes condiciones:^{3, 13}

- En órganos y tejidos más jóvenes.
- Las células madres.
- Cuando aumenta la tasa de actividad metabólica.
- Al aumentar la tasa de proliferación celular y la tasa de crecimiento de los tejidos.

Esto indica que los niños debido a su inherente crecimiento y desarrollo biológico son altamente vulnerables a sufrir alteraciones celulares inducidas por los rayos X.² El daño celular más importante ocasionado por los rayos X, es

sobre los cromosomas, los cuales son estructuras del núcleo formada por la asociación de ADN y proteínas donde se encuentran los genes que contienen toda la información de la célula y sus caracteres hereditarios.¹⁴

El daño en la estructura y/o número de cromosomas es considerado como un riesgo potencial de cáncer. Al respecto, cabe mencionar que para que un proceso canceroso se desarrolle basta con que una sola célula se transforme en maligna, ya sea por factores internos –hereditarios- o factores externos como la radiación ionizante de los rayos X.³

2.7 Detección de daño cromosómico.

Para corroborar el daño ocasionado al ADN por algún agente, es necesario recurrir a ensayos que indiquen que el material genético ha sido alterado. Para ello, existen diversas pruebas, como los son: electroforesis unicelular (ensayo cometa), intercambio de cromátidas hermanas (ICH), aberraciones cromosómicas (AC) y la detección de micronúcleos.¹⁵ Siendo este último uno de los biomarcadores de daño cromosómico más utilizado^{16, 17, 18, 19,}

20

2.8 Micronúcleos.

Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos rezagados en el citoplasma durante la anafase en la división nuclear. Este daño puede ocurrir debido a excesiva exposición a agentes clastógenos que dañan el cromosoma (como la radiación ionizante),^{21, 22} defectos en la mitosis y/o mal reparación del ADN.²³ De tal forma que si el compuesto estudiado es un clastógeno, se formarán micronúcleos pequeños, pero si es un aneuploidógeno (como los medicamentos antineoplásicos), lo que se observará será la formación de micronúcleos grandes.^{21,22} Fig.1

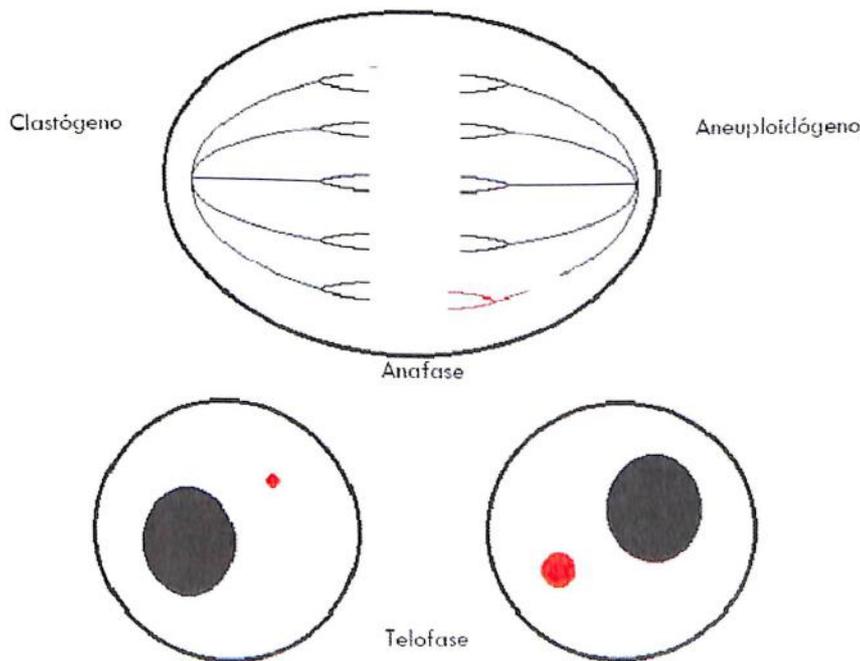


Figura 1. Formación de MN.

Los MN pueden ser fácilmente detectados en células de mucosa bucal^{24,25} médula ósea,²⁶ hepatocitos,²⁷ queratinocitos,²⁸ linfocitos de sangre periférica,^{29, 30, 31} eritrocitos de sangre periférica^{32, 33, 34, 35} y en células germinales de ratones^{36, 37} con lo cual se puede identificar *in vivo* el daño al genoma.

2.9 Cáncer asociado a la exposición a rayos X.

Los tipos de cáncer más frecuentemente asociados a los rayos X son los de tejido linfático y de órganos hematopoyéticos (por ejemplo: leucemia), sin embargo, también pueden presentarse en otros tejidos como en cabeza y cuello.²

Para los menores de 18 años en el país, se reportan de 5 a 8 mil casos nuevos de cáncer por año, de los cuales, tres de cada cuatro son hombres, asimismo representa la segunda causa de mortalidad infantil, prevaleciendo la leucemia y el cáncer del sistema nervioso central.^{38, 39}

Con respecto al cáncer de cabeza y cuello, la tasa de mortalidad a nivel mundial es mayor en hombres que en mujeres (Fig. 2 y 3). En México, el cáncer de cabeza y cuello representa el 17.6% del total de las neoplasias malignas.⁴⁰

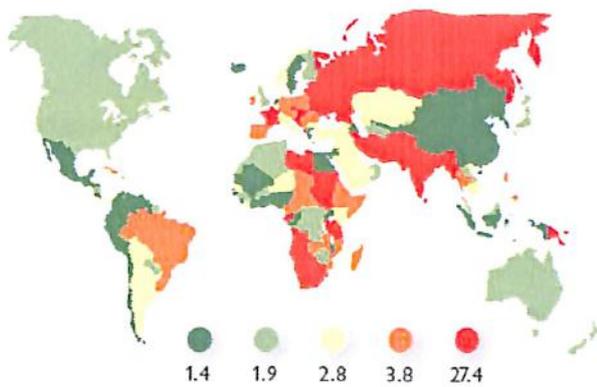


Fig. 2

Mortalidad mundial por cáncer de laringe por 100,000 habitantes según región geográfica, 2000. (Elaborado a partir del *Global 2000*, International Agency for Research on Cancer (World Health Organization))

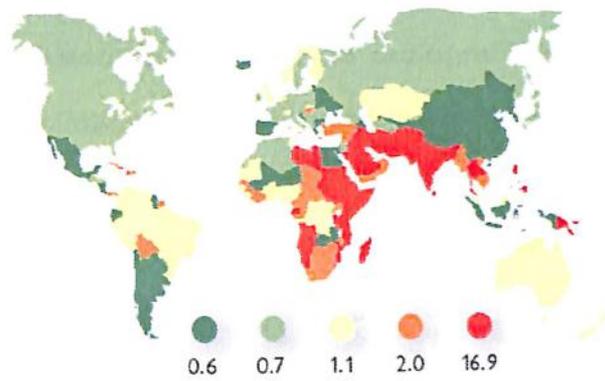


Fig. 3

Mortalidad mundial por cáncer de tiroides por 100,000 habitantes según región geográfica, 2000. (Elaborado a partir del *Global 2000*, International Agency for Research on Cancer (World Health Organization))

Tomado de: García F. *Cáncer de cabeza y cuello en niños*.⁴¹

2.10 Implicaciones sanitarias del uso de la prueba de MN.

El valor de la detección de micronúcleos estriba en el hecho de que la célula de la cual se generó tiene alta probabilidad de generar una neoplasia.^{42, 43, 44, 45, 46, 47} Recientemente, una incrementada frecuencia de MN en linfocitos de sujetos sanos fue vinculada prospectivamente a un elevado riesgo de cáncer.¹⁸ Esto es de gran importancia para las instituciones de salud ya que ayudaría a identificar sujetos con posible riesgo de cáncer, implementándose las medidas sanitarias pertinentes para reducir el riesgo de desarrollar esta enfermedad.

3. ANTECEDENTES.

Se ha establecido que los rayos X utilizados en la toma de radiografías causan daño cromosómico^{48, 49} Uno de los estudios para evidenciar este daño es la detección de MN por medio de la prueba de MN. Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que quedan fuera del núcleo durante la división nuclear y se consideran un biomarcador predictivo de riesgo de cáncer.⁵⁰

Literatura reciente concerniente a biomarcadores de daño al ADN en estudios de población muestra un rápido incremento del uso de la prueba de MN. La razón de este éxito es por la amplia evidencia que vincula la frecuencia de MN a las exposiciones ambiental y ocupacional a agentes genotóxicos, estilo de vida, perfil genético, quimioprevención y pruebas de suplementación, cáncer y la presencia de otras enfermedades.^{20,51}

En un estudio reciente, una frecuencia incrementada de MN en linfocitos de sujetos aparentemente sanos fue relacionada prospectivamente a un riesgo elevado de cáncer.¹⁸ Este hallazgo es de gran importancia, ya que muy recientemente, en un metaanálisis que implicó una revisión de 19 estudios, se encontró una alta correlación entre la frecuencia de MN en células de mucosa bucal y en linfocitos de sangre periférica (LSP), revelando que el conteo de MN en mucosa bucal, aunque detecta una frecuencia más baja de MN que en LSP,

tiene una aplicación similar para evidenciar daño cromosómico y en consecuencia potencial riesgo de cáncer.⁵²

Lo mencionado en el párrafo anterior es de gran importancia debido a que la realización de la prueba de MN en células de mucosa bucal es un método de laboratorio mucho más sencillo, de menor costo que en LSP. Además, la toma de muestra en mucosa bucal implica mínimo riesgo para el paciente y menor dificultad, puesto que la toma de una muestra sanguínea requiere de un mayor riesgo y dificultades para tomarla, particularmente en bebés y niños.^{51,52} Una ventaja adicional importante de la prueba de MN es la eficiencia, ya que con una inversión limitada de tiempo y dinero, una medida fiable de la inestabilidad genética se puede obtener en grandes poblaciones humanas.^{18,53}

La información descrita indica que el estudio del daño al ADN en células exfoliadas coleccionadas de mucosa oral para detección de la frecuencia de MN es una técnica promisoría como un método mínimamente invasivo con aplicación en el monitoreo de poblaciones de estudio expuestas a agentes que dañan el cromosoma,⁵¹ como es el caso de los rayos X.

Por su parte, la OP es una radiografía panorámica dental frecuentemente indicada en odontopediatría para fines diagnósticos y dado que se utilizan rayos X para realizar este estudio de gabinete, esta radiación podría causar daño al ADN.⁵⁴

Existe escasa información sobre el daño cromosómico causado por la radiación emitida durante la toma de una OP. En un estudio realizado por Angelieri y cols.⁵⁵ en Sao Paulo, Brasil, en el que se incluyeron 17 niños, a los cuales se les tomó una muestra de células de la mucosa bucal antes de la exposición a OP y otra muestra 10 días después de la exposición a este estudio radiológico, la evaluación estadística de los resultados mostró que no hubo diferencia significativa en la frecuencia de MN entre las muestras tomadas antes y después de una OP.

Del mismo modo, en otro estudio realizado en Egipto por El-Ashiry y col.⁵⁶ en el que se incluyeron 20 niños expuestos a OP, en los que se determinó la frecuencia de MN en muestras de células de mucosa bucal, los resultados mostraron que no hubo diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de MN en las muestras tomadas antes de la exposición a la OP y 10 días después de la misma.

En México no existen estudios previos en los que se haya investigado si la exposición a una ortopantomografía en pacientes pediátricos puede inducir la formación de MN. Por lo tanto, es conveniente para la salud de la sociedad determinar si este estudio de gabinete puede causar daño cromosómico.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La OP es un estudio radiológico en el que se utilizan los rayos X y es frecuentemente indicado en odontopediatría para establecer un diagnóstico. Se ha establecido que la exposición a los rayos X en otros estudios radiológicos, diferentes a OP, causan daño cromosómico, lo cual representa un riesgo potencial de desarrollar cáncer. Esta alteración del ADN puede ser evidenciada por la formación de MN, que son fragmentos nucleares o cromosomas enteros, que pueden ser detectados por medio de la prueba de MN, la cual es una técnica sencilla de realizarse en células de mucosa bucal, entre otras.

Por el hecho de que la OP es frecuentemente indicada en odontopediatría, es importante definir si tiene la capacidad de causar daño cromosómico. Por lo tanto, surge la siguiente pregunta de investigación:

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la diferencia en la frecuencia de micronúcleos en células de mucosa bucal de pacientes pediátricos antes y después de la exposición a una ortopantomografía?

6. JUSTIFICACIÓN.

La OP es un estudio radiológico muy útil para fines diagnósticos en la práctica odontológica. Para la realización de este estudio de gabinete se utilizan rayos X, los cuales se ha descrito que pueden causar daño cromosómico. Esta alteración en el material genético puede ser evidenciada por la detección de MN por medio de la prueba de MN,⁵⁵ una técnica sencilla y de bajo costo.

En países desarrollados como Estados Unidos y de Europa, se diagnostican anualmente 2.6 millones de casos nuevos de cáncer.^{57, 58} La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que en el año 2007 hubo 7.9 millones de defunciones causadas por esta enfermedad a nivel mundial y se estima que alrededor de 84 millones de personas morirán a causa de cáncer entre 2005 y 2015.⁵⁹

Por su parte, el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), reportó en el año 2007 que en México el cáncer ocupó el cuarto lugar en incidencia y el tercero en mortalidad (55.4% fueron hombres y 44.6% mujeres), lo cual representa el 13.4% del total de defunciones, dato que sustenta también la Secretaría de Salud.^{60, 61} En cuanto al estado de Nayarit, el cáncer fue la segunda causa de muerte reportado por los Servicios de Salud en el año 2008.³⁸

Con base en lo anterior, y que en México no se ha realizado ningún estudio para determinar si los rayos X emitidos en una OP tienen la capacidad de causar daño cromosómico, se justificó realizar una investigación que determine el daño cromosómico que puede causar en pacientes pediátricos la exposición a OP, ya que esta alteración en el ADN representa un riesgo potencial de desarrollar cáncer.⁵⁵ En apoyo a esto último, recientemente, una incrementada frecuencia de MN en linfocitos de sujetos sanos fue vinculada prospectivamente a un elevado riesgo de cáncer. Por lo tanto la determinación de la frecuencia de MN en pacientes pediátricos expuestos a una OP es de gran importancia, ya que demostraría si la radiación emitida en este estudio de gabinete puede causar daño cromosómico y por ende un posible riesgo de cáncer.

Debido a que el cáncer representa un problema de salud pública, la información que se generó en este trabajo es de gran importancia para las autoridades sanitarias ya que si se demuestra que la OP en pacientes pediátricos causa daño cromosómico, se implementarían las medidas necesarias para ser más selectivo en la indicación de una OP en pacientes pediátricos. Esto impactaría en la morbilidad de cáncer así como en las finanzas de las instituciones de salud al evitar el gran costo económico que implica el manejo de un paciente con cáncer.

7. OBJETIVOS.

7.1 OBJETIVO GENERAL

1. Determinar la diferencia en la frecuencia de micronúcleos en células de mucosa bucal de pacientes pediátricos antes y después a la exposición a una ortopantomografía.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Determinar la frecuencia de MN en células de la mucosa bucal en pacientes pediátricos antes de la exposición a una OP.
2. Determinar la frecuencia de MN en células de la mucosa bucal en pacientes pediátricos después de la exposición a una OP.
3. Determinar por género, la frecuencia de MN en células de la mucosa bucal en **pacientes pediátricos antes y después de la exposición a una OP.**

8. HIPÓTESIS.

H_0 : La frecuencia de MN en células de la mucosa bucal de pacientes pediátricos será igual en las muestras tomadas antes y después de la exposición a una OP.

H_1 : La frecuencia de MN será más alta en las muestras de células de mucosa bucal de pacientes pediátricos expuestos a una OP que en las muestras tomadas antes de realizar este estudio radiológico.

9. METODOLOGÍA.

9.1 Tipo de estudio.

Preexperimental con un diseño de preprueba-postprueba con un solo grupo.

9.2 Universo de estudio.

Pacientes pediátricos que acudieron al centro radiológico de la clínica dental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Nayarit, para la toma de una OP por indicación odontológica.

9.3 Unidad de observación.

Los frotis de mucosa bucal de pacientes pediátricos expuestos a OP.

9.4 Unidad de análisis.

El número de MN detectados en los frotis de mucosa bucal de pacientes pediátricos expuestos a OP.

9.5 Criterios de selección.

9.5.1 Criterios de inclusión.

- Pacientes pediátricos que acudan a la clínica de posgrado con indicación odontológica para la toma de OP.
- Pacientes de 6 a 12 años de edad.
- Pacientes pediátricos de género indistinto.

9.5.2 Criterios de exclusión.

- Pacientes que hayan tomado medicamentos durante el último mes.
- Pacientes a los que se les haya realizado un estudio radiográfico durante el último mes.
- Pacientes fumadores pasivos.
- Pacientes que hayan sido intervenidos quirúrgicamente en el último mes.
- Pacientes con algún síndrome o alteraciones sistémicas.

9.5.3 Criterios de eliminación.

- Pacientes que inicien la toma de medicamentos durante el intervalo entre la primera y segunda toma de muestra.
- Niños que sus padres deseen abandonar el estudio.

9.6 Cuadro operacionalización de variables.

	Conceptualización	Operacionalización	Clasificación de variable	Escala de medición
VARIABLE INDEPENDIENTE				
Aplicación de rayos X	Emplear en una persona los rayos X para la toma de una radiografía	Al paciente se le tomará una ortopantomografía por medio de la emisión de rayos X con el aparato PC-1000/laser 1000 panoramic/ cefalometric dental X-ray.	Cualitativa	Nominal
Edad	Tiempo que ha vivido una persona	Se le preguntará directamente al padre cuantos años tiene su hijo (a).	Cuantitativa	Discreta
Género	Fenotipo que distingue a la mujer del hombre.	En el llenado de la hoja de recolección de datos, se preguntará al padre o tutor que género es el paciente.	Cualitativa	Nominal Dicotómica
VARIABLE DEPENDIENTE				
Número de micronúcleos (MN)	Número de fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que por causa de agentes genotóxicos quedan fuera del núcleo en mitosis.	Se contarán cuantos MN se encuentran en 1000 células de un frotis de la mucosa bucal.	Cuantitativa	Discreta

9.7 Procedimientos para la recolección de información, instrumentos a utilizar y métodos para el control de calidad de los datos.

Se le explico a los padres de los niños y a los mismos niños de lo que se trataba el estudio y además se les entrego un folleto donde se les informaba en qué consistía el estudio y como se realizaba la toma de muestra. Posteriormente se les entregaba el consentimiento informado pidiéndoles que lo leyeran cuidadosamente. Si los padres y el paciente aceptaban, se incluían en el estudio y a continuación se llevaba a cabo el llenado del formato con la ficha clínica del paciente. Ver anexos

9.8 Realización de la prueba de micronúcleos.

La toma de la muestra se llevo a cabo por el investigador en el Centro radiológico de la clínica dental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Unidad Académica de Odontología perteneciente a la Universidad Autónoma de Nayarit. En donde se utilizo un aparato de rayos X PC-1000/laser 1000 panoramic/cefalometric dental X-ray para la toma de la OP.

- Se tomaron muestras de la mucosa bucal de cada paciente, previo enjuague de la boca con agua, con un portaobjetos limpio y desengrasado se coleccionaron células de la mucosa bucal de ambos carrillos. Inmediatamente después se tomo la OP.
- La muestra colectada se deposito en otro portaobjetos limpio y se realizo un frotis.
- Los frotis se secaron al aire libre y se fijaron en metanol al 80% por 48 h.
- Las muestras se tiñeron con naranja de acridina.
- El conteo de los MN se realizo en 2000 células de la muestra de mucosa bucal, por medio de un microscopio de epifluorescencia, con el objetivo de inmersión de 100x, en el Laboratorio de Inmunogenética de la Unidad Académica de Medicina de la Universidad Autónoma de Nayarit, por el investigador.
- La guía para la identificación de CMN en células epiteliales de la mucosa bucal se hicieron acorde a los criterios establecidos por Tolbert y cols.⁶²
- 10 días después de la exposición a OP se tomó otra muestra de mucosa bucal y se realizó la prueba de MN.

9.9 Procedimientos para garantizar aspectos éticos en los estudios con sujetos humanos.

Este estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Bioética de la Unidad Académica de Medicina de la Universidad Autónoma de Nayarit.

La información recolectada en este estudio es confidencial y solo será usada para los fines de esta investigación.

9.10 Análisis estadístico para la prueba de hipótesis.

Los resultados son expresados como promedios aritméticos \pm desviación estándar (DE). Los resultados fueron procesados con el uso del Statistical Package for the Social Sciences (SPSS v16.00) for Windows medical pack (SPSS, Chicago, IL).

Se realizó:

- Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de la variabilidad. Así como distribución de frecuencia y proporciones
- Estadística inferencial paramétrica para muestras dependientes con el uso de la prueba *t pareada* y un valor de $p < 0.05$ se considero estadísticamente significativo.
- Además, se utilizó el Modelo de Poisson para la función de densidad aleatorizada, con el cual se establece la probabilidad de que el paciente presente MN.

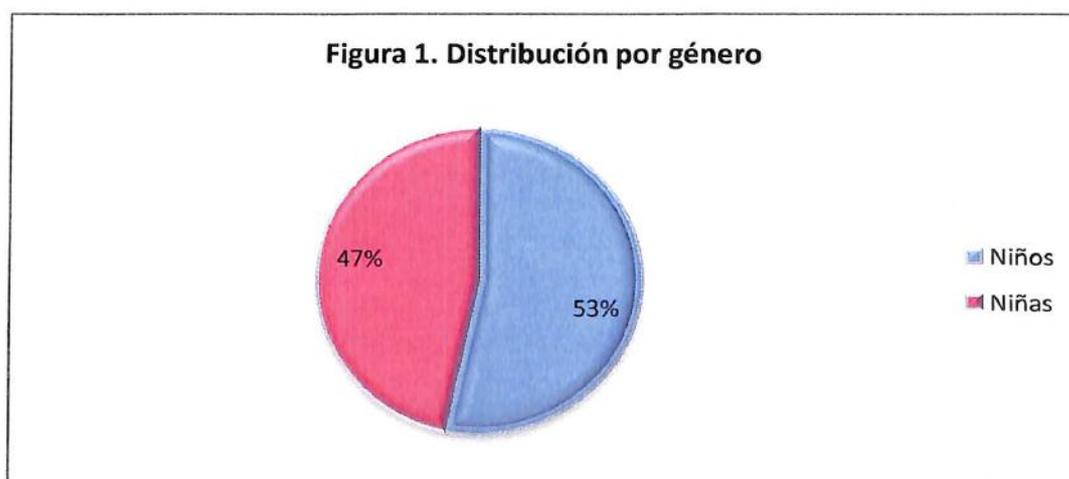
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el cuadro 1 se muestra que la edad promedio del grupo de estudio fue de 8 años (D.E. 1.5 años). La figura 1 muestra la distribución por género en la que se observa leve predominancia del género masculino (16 niños y 14 niñas).

Cuadro 1. Estadística descriptiva de la edad de los pacientes pediátricos

N	Válidos	30
	Perdidos	0
Media		8.1667
Mediana		8.0000
Moda		7.00 ^a
Desv. típ.		1.51050
Varianza		2.282
Rango		7.00
Mínimo		5.00
Máximo		12.00
Suma		245.00

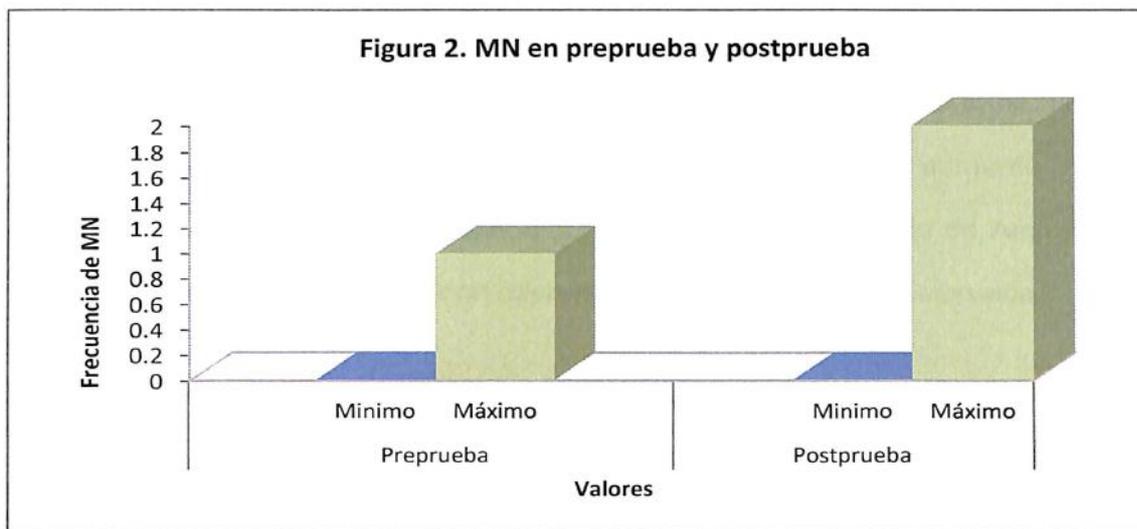
Figura 1. Distribución por género



En el cuadro 2 se muestra un aumento del valor de la media obtenido en la postprueba comparado con la preprueba, obteniendo un valor de 0.3334 para obtener un MN. En la figura 2 se muestra que el valor mínimo del rango en la preprueba fue de 0 MN y el máximo de 1 MN, comparado este último con la postprueba que obtuvo un valor máximo de 2 MN.

Cuadro 2. Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de la variabilidad.

	MN Preprueba	MN Posprueba
N Válidos	30	30
Perdidos	0	0
Media	.1333	.4667
Error tít. de la media	.06312	.11480
Mediana	.0000	.0000
Moda	.00	.00
Desv. tít.	.34575	.62881
Varianza	.120	.395
Asimetría	2.273	1.025
Error tít. de asimetría	.427	.427
Curtosis	3.386	.113
Error tít. de curtosis	.833	.833
Rango	1.00	2.00
Mínimo	.00	.00
Máximo	1.00	2.00
Suma	4.00	14.00

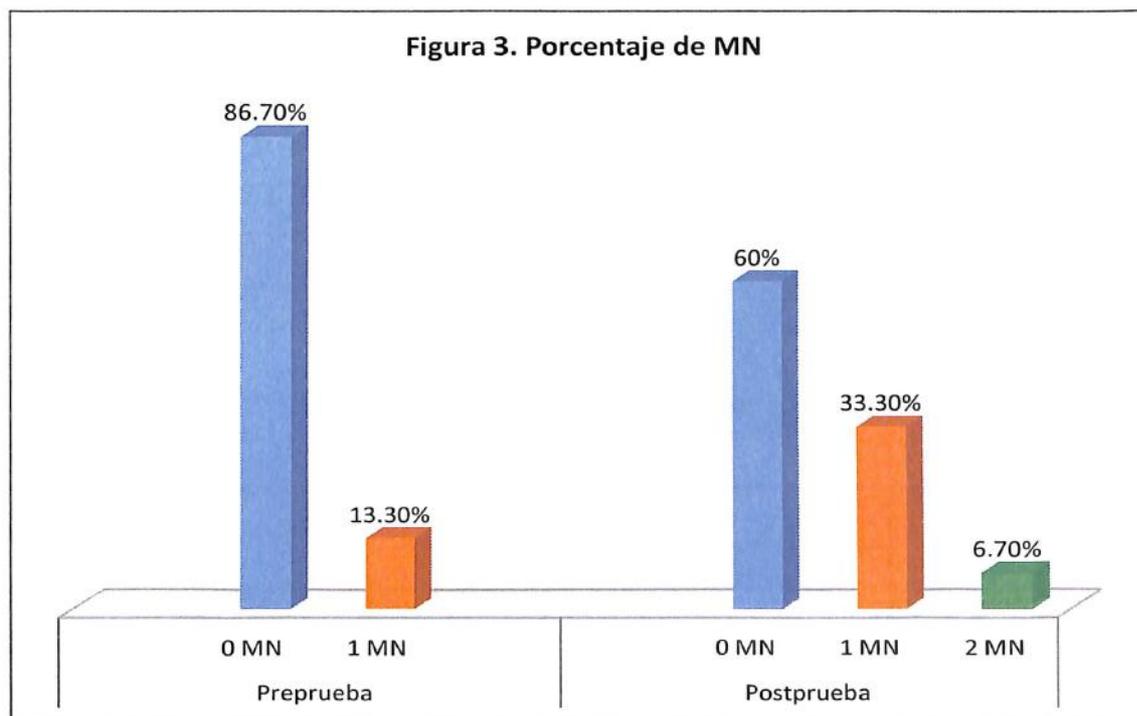


El cuadro 3 muestra la distribución de frecuencia de MN en muestras de células de la mucosa bucal de pacientes pediátricos expuestos a OP en la preprueba y postprueba. Aquí se observa un aumento en la frecuencia de MN en la postprueba.

Cuadro 3. Distribución de frecuencias de MN en pacientes pediátricos (N=30)

Número de MN	Preprueba			Postprueba		
	Pacientes con MN	Porcentaje	Porcentaje acumulado	Pacientes con MN	Porcentaje	Porcentaje acumulado
0	26	86.7	86.7	18	60	60
1	4	13.3	100	10	33.3	93.3
2	0	0	100	2	6.7	100
Total	30	100		30	100	

La figura 3 muestra el porcentaje de MN en las muestras de células de la mucosa bucal de pacientes pediátricos antes y después de la exposición a la OP. Estos resultados indican que la emisión de rayos X durante la toma de una OP causan daño cromosómico, como se evidenció por un aumento en el porcentaje en la formación de MN. Esto contrasta con el estudio de Angelieri y El-Ashiry quienes no encontraron diferencia en la preprueba y postprueba.



El cuadro 4 muestra la frecuencia de MN por género del paciente. Antes de la exposición a OP, 3 niños (19%) y una niña (7%). presentaron un MN. Después de la exposición a OP (cuadro 5), 6 niños (37%) y 4 niñas (28%) presentaron un MN, mientras que un niño (6%) y una niña (7%) presentaron 2 MN.

Cuadro 4. Género * Preprueba de MN

Recuento

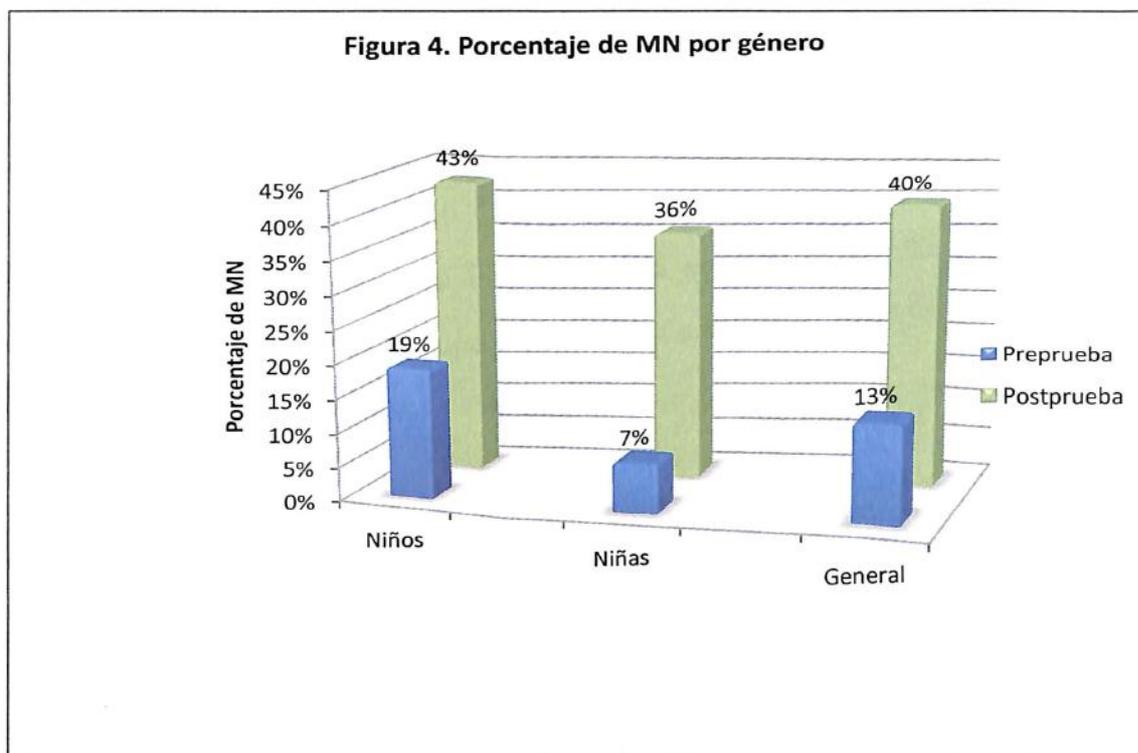
		Preprueba de MN		Total
		.00	1.00	
Género	Masculino	13	3	16
	Femenino	13	1	14
Total		26	4	30

Cuadro 5. Género * Postprueba de MN

Recuento

		Postprueba de MN			Total
		.00	1.00	2.00	
Género	Masculino	9	6	1	16
	Femenino	9	4	1	14
Total		18	10	2	30

La figura 4 muestra el porcentaje de MN por género, observándose una predominancia en el género masculino.



En el cuadro 6 se muestran los resultados obtenidos por medio de la prueba t pareada en los cuales se obtiene el valor de t_{tablas} interpolando en la tabla de porcentajes para la distribución t . Se tiene una N total de 30, siendo $30 - 1 = 29$ grados de libertad (gl). En la tabla de distribución t con 29 gl y una probabilidad de 0.95, para una prueba de 2 colas (0.025 para cada lado = 0.05), el valor t_{tablas} es $1.699 \approx 1.69$. Al ser una prueba a dos colas, el valor crítico del lado negativo es -1.69 , por lo tanto:

$$t_{calculada} = -3.34 < t_{tablas} = -1.69$$

Este resultado muestra una diferencia estadística significativa ($p= 0.002$) entre las medias de ambos grupos, lo que indica que la exposición a rayos X en la toma de una OP induce la formación de MN.

Cuadro 6: Prueba de muestras relacionadas

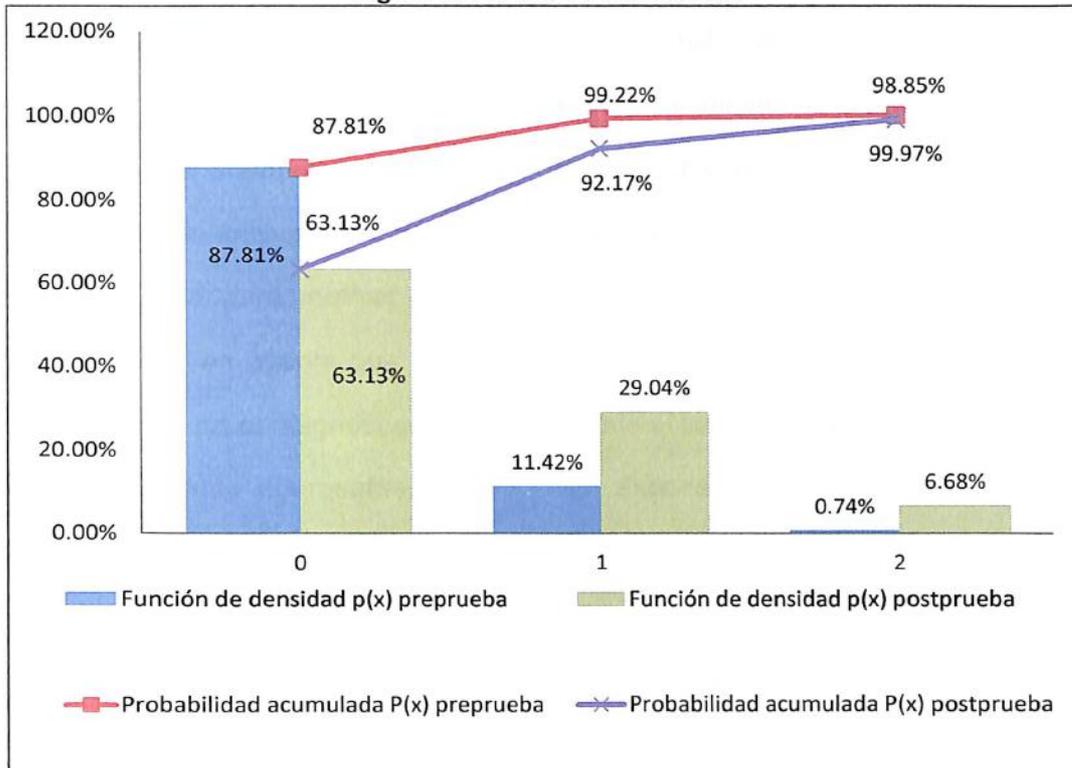
	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación t.p.	Error t.p. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
MN Preprueba - MN Posprueba	-.33333	.54667	.09981	-.53746	-.12920	-3.340	29	.002

El cuadro No. 7 y figura 5, muestran el resultado obtenido con el modelo de Poisson, en el cual se observa en la función de densidad que la probabilidad de que un nuevo paciente presente una probabilidad de 87.81% de presentar 0 MN, 11.42% de presentar 1 MN y 0.74% de presentar 2 MN antes de la exposición a una OP. En cambio, después de la exposición a una OP, la probabilidad de tener 1 MN es de 29.04% y la probabilidad de tener 2 MN es de 6.68%, por lo tanto, el riesgo de que un paciente presente al menos 1 MN después de la exposición a una OP es de 35.72% cuando antes de la exposición el riesgo de presentar al menos 1 MN es de 12.16%.

Cuadro 7: Modelo de Poisson.

Promedio preprueba	0.13	MN por cada 30 muestras		
Promedio postprueba	0.46	MN por cada 30 muestras		
Función de densidad				
Cantidad de MN k	Función de densidad $p(x=k)$	Probabilidad acumulada $P(x)$	Función de densidad $p(x=k)$	Probabilidad acumulada $P(x)$
0	87.81%	87.81%	63.13%	63.13%
1	11.42%	99.22%	29.04%	92.17%
2	0.74%	99.97%	6.68%	98.85%

Figura 5. Función de densidad.



Los resultados de este estudio muestran que los rayos X emitidos en la toma de una OP a pacientes pediátricos causan daño cromosómico, como se evidenció por un aumento significativo en el número de MN detectados en la posprueba. Esto está en desacuerdo con lo reportado por Angelieri,⁵⁵ así como por El-Ashiry,⁵⁶ ya que ellos no encontraron una diferencia estadísticamente significativa en la preprueba y posprueba.

El daño cromosómico causado por la OP que se detectó en este estudio, debe alertar a los profesionales de la Odontología sobre el riesgo que conlleva la toma de una OP, ya que muchos de ellos emplean la toma radiográfica prácticamente siempre como herramienta de diagnóstico.⁶³ Lo que los lleva a caer en el uso indiscriminado de tomas radiográficas, puesto que su aportación es insuficiente para realizar un diagnóstico por sí solas. Sobre este aspecto, debe tenerse en cuenta que las radiografías son exclusivamente un auxiliar de diagnóstico y no el diagnóstico en sí; por lo que el paciente candidato a OP debe ser seleccionado rigurosamente para evitar exponerlos a radiación de manera innecesaria.⁶⁴

Desde el punto de vista sanitario, es imprescindible un cambio de conducta en la decisión de la toma radiográfica, así como un protocolo que establezca cuando realizar una OP en pacientes pediátricos, puesto que la radiación que el paciente recibe de rayos X puede causar daño cromosómico, el cual se considera un riesgo potencial de desarrollar cáncer, enfermedad que representa un problema de salud pública.

Lo anterior es de gran importancia para las instituciones de salud, ya que la determinación de la frecuencia de MN en pacientes pediátricos expuestos a una OP podría ser una herramienta útil para predicción de riesgo de cáncer. De tal manera que se establecerían medidas preventivas adecuadas con el objetivo de minimizar el riesgo de desarrollar cáncer en los pacientes expuestos a este

estudio de gabinete. De esta manera, las instituciones de salud al prevenir un caso de cáncer, reducirían los costos anuales destinados para la atención de los pacientes con cáncer. Asimismo, se podrá evitar deteriorar la calidad de vida del paciente y su familia, evitando los enormes gastos económicos, físicos y emocionales que este tipo de enfermedad conlleva.

11. LIMITACIONES Y SEGOS.

Una limitante en este trabajo fue el tamaño de la muestra ($n=30$). Un tamaño de muestra mayor podría proporcionar un poder estadístico adecuado para las pruebas de hipótesis.

Un sesgo fue que el conteo de MN lo realizó la misma persona que tomó las muestras.

12. CONCLUSIONES.

Con los resultados obtenidos en este estudio se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de trabajo. De tal manera, que el grupo de pacientes pediátricos incluidos en este estudio se puede concluir que la exposición a los rayos X en la toma de una OP puede causar daño cromosómico, como se evidenció por la inducción en la formación de MN

13. RECOMENDACIONES.

1. Es sanitariamente conveniente que el profesional odontológico realice una historia clínica completa del pacientes y de esta manera, seleccionar mejor los casos que requieran la toma de una OP. Esto con el fin de no exponer de manera indiscriminada a los pacientes pediátricos a los rayos X.
2. Establecer un protocolo más estricto para la selección de los casos que requieran la toma de OP.
3. Después de corroborar el daño cromosómico en una muestra representativa, sugerir la implementación de la técnica de MN en los

servicios de salud y en las instituciones médicas educativas como las universidades, como una herramienta para detección de daño cromosómico en los pacientes que sean expuestos a OP.

14. BIBLIOGRAFÍA.

- ¹ Tardáguila J, Del Cura R. Monografía SERAM, radiología ortopédica y radiología dental: una guía práctica. Madrid. Ed. Panamericana. 2004. ISBN 84.7903.897.7
- ² Haring J, Jansen L. Radiología Dental, principios y técnicas. Philadelphia. McGraw-Hill. 2002
- ³ Finestres F. Protección en radiología odontológica. (Publicación de Libro en línea) 2004. Universidad de Barcelona. Pág. 53 [consultado el 13 de Febrero 2010]. Disponible en: URL: http://books.google.com.mx/books?id=_QoDug48TVkC&printsec=frontcover&source=gb_s_similar_books_s&hl=es#v=onepage&q=&f=false
- ⁴ Ribeiro DA, Marques ME, Assis GF et al. No relationship between subchronic fluoride intake and DNA damage in Wistar rats. Caries Res. 2004, 38:576-599.
- ⁵ México Sano. Las caries y enfermedades periodontales problemas de salud pública en México. (Publicación en línea) 2009, México D.F., año 2, num. 12. Disponible en: URL: http://portal.salud.gob.mx/descargas/pdf/period_mexsano/mexicosano_nov09.pdf
- ⁶ Whaites E. fundamentos de radiología dental. España. Elsevier Masson. 4ª. Ed. 2008. ISBN 978.84.458.1872.5
- ⁷ American Academy of Pediatrics. Stages of infancy and childhood. [Consultado el 20 de Junio de 2001] Disponible en: www.aap.org
- ⁸ Boj J, Catalá M, García-Ballesta C, Mendoza A. Odontopediatría. Barcelona. Masson. 2005. ISBN 84.458.1410.9
- ⁹ Becerra da Silva L. Tratado de odontopediatría, Cap. 5, Tomo 1. Colombia. Amolca. 2008
- ¹⁰ Organización Mundial de la Salud. Cáncer (Publicación en línea) 2008. Nota descriptiva N°297, Julio [consultado el 22 de Noviembre, 2009] Disponible en: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>
- ¹¹ Norma Oficial Mexicana para la utilización de rayos X. NOM-157-SSA1-1996. [Consultado el 20 de Junio de 2011] Disponible en: www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/157ssa16.html
- ¹² Norma Oficial Mexicana para la prevención y control de enfermedades bucales. NOM-013-SSA2-1994. [Consultado el 20 de Junio de 2011] Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m013ssa24.html>
- ¹³ Autoridad regulatoria nuclear. Cap.6 Efectos biológicos de la radiación. En: Curso de protección radiológica, nivel técnico. 2007. República Argentina. Pp. 69-91. [consultado el 16 de Febrero 2010] Disponible en: <http://200.0.198.11/Prog-cur/T%E9cnicos/2007/06-07.pdf>

¹⁴ Suk WA, Murray K, Avakian MD. Environmental hazards to children's health in the modern world. *Mutat Res.* 2003; 544:235–242

¹⁵ Neri M, Bonassi E. *Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage I. Overview and critical issues.* *Mutation Research* 612 (2006) 1–13 [consultado el 20 de Octubre, 2009] Disponible en: http://ehs.sph.berkeley.edu/Holland/Publication/Neri_2006_I.pdf

¹⁶ Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death, *Mutat. Res.* 600 (2006) 58–66.

¹⁷ Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay, *Nat. Protoc.* 2 (2007) 1084–1104.

¹⁸ Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang W, Holland N, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans, *Carcinogenesis* 28 (2007) 625–631.

¹⁹ Olaharski A, Sotelo R, Solorza-Luna G, Gonshebbatt M, Guzman P, Mohar A, et al. Tetraploidy and chromosomal instability are early events during cervical carcinogenesis, *Carcinogenesis* 27 (2006) 337–343.

²⁰ Norppa H, Bonassi S, Hansteen I, Hagmar L, Stromberg U, Rossner P, et al. Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk, *Mutat. Res.* 600 (2006) 37–45.

²¹ Zúñiga G, Gómez B. La prueba de micronúcleos. *Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana.* 2006, vol. XIX, no. 1 [consultado el 20 de agosto, 2009] Disponible en: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/micronucleos/index.htm>

²² Fenech M, Holland N, Chang W, Zeiger E, Bonassi S. The Human MicroNucleus Project—An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. Elsevier Science, *Mutation Research.* 1999, vol. 428, p. 271–283. [consultado el 20 de octubre, 2009] Disponible en: http://ehs.sph.berkeley.edu/Holland/humn/documents/mutationResearch_428_1999.pdf

²³ Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmüller S, Fenech M. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps, *Mutat. Res.* 659 (2008) 93–108.

²⁴ Boffetta P, Van der Hel O, Norppa H, Fabianova E, Fucic A, Gundy S, et al. Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from Central Europe, *Am. J. Epidemiol.* 165 (2007) 36–43.

²⁵ Torres-Bugarín O, De Anda-Casillas A, Ramírez-Muñoz MP, Sánchez-Corona J, Cantú JM, Zúñiga G. Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. *Mutat Res.* 1998, 413: 277–281.

-
- ²⁶ Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res.* 1975, 31: 9-15.
- ²⁷ Schmezer P, Pool BL, Lefevre PA, Callander RD, Ratpan F, Tinwell H, Ashby J. Assay-Specific genotoxicity of n-nitrosodibenzylamine to the rat liver *in vivo*. *Environ Mol Mutagen.* 1990, 15: 190-197.
- ²⁸ Shuilin H, Baker RSU. Initiation carcinogen, triethylene melamine, induces micronuclei in skin target cells. *Environ Mol Mutagen.* 1989, 14: 1-5.
- ²⁹ Murgia E, Ballardín M, Bonassi S, Rossi A, Barale R, Validation of micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes as early cancer risk biomarker in a nested case-control study. *Mutat. Res.* (2007).
- ³⁰ Heddle J, Lue C, Saunderson E, Benz R. Sensitivity to five mutagens in Fanconi's anemia as a measure by the micronucleus method. *Cancer Res.* 1978, 38: 2983-2988.
- ³¹ Herrera A, Barrueco C, Caballo C, Peña E. Effect of permethrin on the induction of chromatid exchanges and micronuclei in cultured human lymphocytes. *Environ Mol. Mutagen.* 1992, 20: 218-228.
- ³² Tice R, Luke C, Shelby M. Methyl isocyanate: an evaluation of *in vivo* cytogenetic activity. *Environ Mol Mutagen.* 1987, 9: 37-58.
- ³³ Torres-Bugarín O, Zamora Perez AL, Esparza-Flores A, López-Guido B, Feria-Velasco A, Cantú JM, Zúñiga G. Eritrocitos micronucleados en niños esplenectomizados con y sin quimioterapia. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 1999, 56: 212-217.
- ³⁴ Zúñiga G, Torres-Bugarín O, Ramírez-Muñoz MP, Ramos A, Fanti-Rodríguez E, Portilla E, García-Martínez D, Cantú JM, Gallegos-Arreola MP, Sánchez-Corona J. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutat Res.* 1996, 369: 123-127.
- ³⁵ Zúñiga G, Torres-Bugarín O, Ramírez-Muñoz MP, Delgado-Lamas JL, De Loza-Saldaña R, Cantú JM. Micronucleated erythrocytes in splenectomized patients with and without chemotherapy. *Mutat Res.* 1996; 361: 107-112
- ³⁶ Lähdetie J. Micronuclei induced during meiosis by ethylmethanesulfonate, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene in male rats. *Mutat Res.* 1983, 120: 257-260.
- ³⁷ Russo A, Levis AG. Further evidence for the aneuploidogenic properties of chelating agents: Induction of micronuclei in mouse male germ cells by EDTA. *Environ Mol Mutagen.* 1992, 19: 125-131.

³⁸ Servicios de Salud de Nayarit. [consultado el 23 de Noviembre, 2009] Disponible en: <http://www.ssn.gob.mx/>

³⁹ Secretaria de Salud. *Dotan de mayores recursos al Seguro Popular para hacer frente al cáncer infantil*. México Sano. Año 2, núm. 7, marzo de 2009. [consultado el 23 de Noviembre, 2009] Disponible en: http://portal.salud.gob.mx/descargas/pdf/period_mexsano/mexicosano_mar09.pdf

⁴⁰ Tirado L, Granados M. *Epidemiología y etiología del cáncer de la cabeza y el cuello*. Cancerología 2. 2007, 9-17 [consultado el 22 de Noviembre, 2009] Disponible en: <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1181662434.pdf>

⁴¹ García F. *Cáncer de cabeza y cuello en niños*. Radio Nederland Wereldomroep. 2002 [consultado el 24 de Noviembre, 2009] Disponible en: http://static.rnw.nl/migratie/www.informarn.nl/salud/cie_arc_pediatria/cie020521_cancerinfantil.html-redirected

⁴² Zacalain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. *El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos*. Anales. 2005. [consultado el 20 de agosto, 2009] Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/revis2a.html>

⁴³ Bonassi S y cols. *An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans*. Carcinogenesis Advance Access. 2006. [citado el 20 de octubre, 2009] Disponible en: <http://ehs.sph.berkeley.edu/Holland/humn/publications/Micronucleus.pdf>

⁴⁴ Di Giorgio M, Nasazzi N. *Ensayo de micronúcleos en linfocitos con bloqueo de la citocinesis como posible indicador de la respuesta del paciente a la radioterapia*. 2001. [citado el 20 de octubre, 2009] Disponible en: <http://200.0.198.11/MenoriaT/Mt-01/MT17A01.pdf>

⁴⁵ Kirsch M, Fenech M. *Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes*. Mutagenesis. 2001, 16: 51-58. [citado el 22 de octubre, 2009] Disponible en: <http://mutage.oxfordjournals.org/cgi/content/full/16/1/51>

⁴⁶ Díaz C, González Y. *Frecuencia de micronúcleos en sangre periférica de pacientes tratados con ozono*. Rev Cubana Invest Bioméd [periódico en la Internet]. 1999 [citado el 19 de octubre, 2009] vol. 18(1): 29-31. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001999000100011&lng=es&nrm=iso.

⁴⁷ Domínguez A, Batista A y col. *Efectos citogenéticos por exposición ocupacional a citostáticos*. Rev Med IMSS. 2004, vol. 42, no. 6, p.487-492 [citado el 28 de octubre, 2009] Disponible en: http://www.imss.gob.mx/NR/rdonlyres/37E994ED-A6A5-4330-80ED-C9BBC484083E/0/2004rm4206efectos_citogeneticos.pdf

-
- ⁴⁸ Huang Y, Hou H, Yi Q, Zhang Y, Chen D, Jiang E, Xia Y, Fenech M, Shi Q. The fate of micronucleated cells post X-irradiation detected by live cell imaging. *DNA Repair (Amst)*. 2011 Jun 10;10(6):629-38.
- ⁴⁹ Johannes C, Dixius A, Pust M, Hentschel R, Buraczewska I, Staaf E, Brehwens K, Haghdoost S, Nievaart S, Czub J, Braziewicz J, Wojcik A. The yield of radiation-induced micronuclei in early and late-arising binucleated cells depends on radiation quality. *Mutat Res*. 2010 Aug 14;701(1):80-5. Epub 2010 May 21.
- ⁵⁰ Bonassi S, Ugolini D, Kirsch-Volders M, Strömberg U, Vermeulen R, Tucker J.D, Human population studies with cytogenetic biomarkers: review of the literature and future perspectives, *Environ. Mol. Mutagen*. 45 (2–3) (2005) 258–270.
- ⁵¹ Ceppi M, Biasotti B, Fenech M, Bonassi S. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: Statistical and epidemiological issues. *Mutation Research* 705 (2010) 11–19
- ⁵² Bonassi S, Biasotti B, Kirsch-Volders M, Knasmueller S, Zeiger E, Burgaz S, Bolognesi C, Holland N, Thomas P, Fenech M. State of the art survey of the buccal micronucleus assay—a first stage in the HUMN_{XL} project initiative. *Mutagenesis* vol. 24 no. 4 pp. 295–302, 2009
- ⁵³ Majer BJ, Laky B, Knasmuller S, et al. Use of the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. *Mutat Res* (2001) 489:147–172
- ⁵⁴ Cerqueira EM, Gomes-Filho IS, Trindade S, et al. Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to X-rays during panoramic dental radiographies. *Mutat Res* (2004) 562:111–117
- ⁵⁵ Angelieri F, Oliveira G. DNA damage and cellular death in oral mucosa cells of children who have undergone panoramic dental radiography. *PediatrRadiol*. 2007, 37:561–565.
- ⁵⁶ El-Ashiry EA, Abo-Hager EA, Gawish AS. Genotoxic effects of dental panoramic radiograph in children. *J Clin Pediatr Dent*. 2010 Fall;35(1):69-74.
- ⁵⁷ Merck Argentina. Cáncer de cabeza y cuello. (Publicación en línea) 2009. Marzo [consultado el 22 de Noviembre, 2009] Disponible en: URL: http://www.merck.com.ar/es/pharmaceuticals/products/oncologia/cancer_cabeza_cuello/cancer_de_cabeza_y_cuello.html
- ⁵⁸ Granell Navarro J., Puig Rullán A. Registro de cáncer de cabeza y cuello: estudio prospectivo de incidencia a dos años. *Oncología (Barc.)* [revista en la Internet]. 2004 Ene [citado 2009 Nov 26] ; 27(1): 33-39. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352004000100004&lng=es.
-

-
- ⁵⁹ Organización Mundial de la Salud. Cara a cara con la enfermedad crónica: el cáncer. 2006. [consultado el 6 de Junio, 2010] Disponible en: <http://www.who.int/features/2006/cancer/es/>
- ⁶⁰ Secretaria de Salud. Rendición de cuentas en salud 2008. Disponible en: <http://portal.salud.gob.mx/descargas/pdf/rsc2008.pdf>
- ⁶¹ Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer, datos nacionales. Feb. 2009. [consultado el 22 de Noviembre, 2009] Disponible en: www.inegi.gob.mx/inegi/contenidos/espanol/.../cancer0.doc
- ⁶² Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development. *Mutat. Res.* 1992;271:69-77
- ⁶³ Peciuliene V, Rimkuvienė J, Maneliene R, Drukteinis S. Use of dental radiography among Lithuanian general dentists. *Stomatologija.* 2009;11(3):77-82. [consultado el 10 de Febrero 2010] Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19996673?itool=EntrezSystem2_PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=3
- ⁶⁴ Santos R, Miranda A, Silva Eda C. Radioprotection norms and the use of individual protection equipments from the view of surgeon-dentist. *Cien Saude Colet.* 2010 Oct;15 Suppl 2:3125-7. [Consultado el 11 de junio 2011] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21049152>

15. ANEXOS.

Anexo 1. Carta de consentimiento informado.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



ÁREA ACADÉMICA DE CIENCIAS DE LA SALUD



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por este medio, yo el firmante manifiesto voluntariamente que mi hijo(a) _____ participe en el estudio del cual se me ha informado ampliamente, reconociendo que existe un riesgo mínimo en la toma de la muestra. Además, se me ha explicado en detalle el procedimiento, los beneficios que este estudio va a aportar en el futuro a los profesionales en formación y los que actualmente están ejerciendo su profesión.

Es de mi conocimiento que la indicación de radiografías dentales es una práctica cotidiana para el odontólogo en el diagnóstico bucal de cada paciente, por lo que, el objetivo de este estudio es identificar algún posible efecto que aún sea desconocido, en caso de ser así, el investigador los determinará para tomar decisiones en el futuro con el fin de brindar la mejor atención a nuestros hijos.

Entiendo que el procedimiento solamente implica que a mi hijo le sea tomado un frotis de su mucosa bucal antes de la ortopantomografía y 10 días después de la toma de la radiografía, la cual será tomada por un profesional en las instalaciones del Área de Posgrado de Odontología. Una vez tomado el segundo frotis concluye la participación de mi hijo en este estudio. En caso de que yo estime conveniente, mi hijo puede abandonar el estudio sin necesidad de dar explicaciones y sin compromiso alguno de mi parte.

Firma del paciente infantil: _____

Nombre y firma del padre o tutor

CDEEP. Emma G. Aguiar Fuentes

Anexo 2. Datos generales del paciente.

Paciente no. _____

Nombre del paciente: _____

Nombre del padre o tutor: _____

Teléfono: _____

Edad: _____ Género: _____ Peso: _____ Talla: _____

Fecha de primer toma de muestra: _____

Fecha de segunda toma de muestra: _____

1er. Conteo de MN: _____

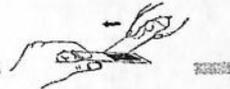
2º. Conteo de MN: _____

Anexo 3. Folleto informativo para el paciente.

Toma de muestra



Participar en esta investigación, consiste en que primero te enjuagaras la boca con agua y después tomaré un poco de tu saliva que esta pegada a la parte interna de tus cachetes, utilizando una pequeña lamina de cristal. Esta saliva la pondré en otra lámina de cristal.



Después te tomarán la radiografía.
Cuando pasen 10 días, a partir de hoy, te espero para tomar nuevamente otro poco de tu saliva de la misma manera.

Gracias!!