



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Medicina

Descripción histórica de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por agentes inductores de enlaces covalentes cruzados en individuos sanos

Diciembre, 2021

Tesis presentada para obtener el grado de: Licenciatura en Medicina

Tesista: David Medina Sánchez

Director de Tesis: Dra. Benilde García de Teresa
Correo electrónico: b.garciadeteresa@gmail.com

Asesor de Tesis: Dra. Teresita Romero Ogawa
Correo electrónico: trogawa@yahoo.com.mx
NIP: 100052433

Tabla de contenido

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	5
ANTECEDENTES GENERALES	5
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	8
<i>Las aberraciones cromosómicas aumentan conforme avanza la edad</i>	8
<i>Las aberraciones cromosómicas como biomarcador de exposición a agentes clastógenos</i>	9
<i>Las aberraciones cromosómicas consideradas como factor de riesgo para desarrollar neoplasias</i>	10
<i>La presencia de aberraciones cromosómicas como parte de los síndromes de inestabilidad cromosómica</i>	11
<i>La prueba citogenética para el diagnóstico de AF en el INP</i>	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
OBJETIVOS	14
OBJETIVO GENERAL.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
MATERIAL Y MÉTODOS	14
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	14
MATERIAL.....	15
TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS	16
ANÁLISIS DE DATOS.....	17
RESULTADOS	18
I.- ABERRACIONES CROMOSÓMICAS.....	18
1.- <i>Descripción de los estudios de aberraciones cromosómicas y los donadores</i>	18
2.- <i>Frecuencias de aberraciones cromosómicas</i>	19
3.- <i>Tipo de aberraciones cromosómicas</i>	23
II.- VARIABILIDAD EN LAS AC	24
1.- <i>Sujetos</i>	24
2.- <i>Agente</i>	32
3.- <i>Lectores</i>	33
DISCUSIÓN	35
I.- ABERRACIONES CROMOSÓMICAS.....	36
<i>La frecuencia de aberraciones cromosómicas en general</i>	36
<i>La frecuencia de aberraciones cromosómicas en el tiempo</i>	38
<i>Tipo de aberraciones cromosómicas</i>	38
II.- VARIABILIDAD EN LAS ABERRACIONES CROMOSÓMICAS	39
<i>Sujetos</i>	39
<i>Agente</i>	42
<i>Lectores</i>	43
CONCLUSIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXOS	47

Resumen

Introducción. El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la molécula encargada de conservar y transmitir la herencia, para esto es fundamental que su estructura se mantenga de generación en generación, pero se encuentra constantemente expuesta a daño, tanto endógeno como exógeno, lo que ha llevado a la célula a desarrollar mecanismos de reparación que le permiten salvaguardar la integridad de esta. Cuando estos mecanismos fallan, el daño al ADN puede manifestarse por marcadores de daño como las aberraciones cromosómicas (AC) que son visibles en preparaciones de metafases. Las AC han llamado la atención a lo largo de los años, ya que su presencia se relaciona con el envejecimiento, la exposición a agentes clastógenos y el riesgo para desarrollar neoplasias. Por lo que se consideran un biomarcador de daño al ADN y una señal de falla en los mecanismos de reparación del ADN, sirviendo como método diagnóstico de síndromes de inestabilidad cromosómica, como en la Anemia de Fanconi (AF).

Objetivo. Describir la frecuencia histórica de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por agentes inductores de enlaces covalentes cruzados en individuos sanos donadores de muestra para las pruebas de aberraciones cromosómicas realizadas en el laboratorio de Citogenética del INP.

Material. Registros históricos y base de datos que alberga los resultados de pruebas de aberraciones cromosómicas para diagnóstico de AF en el laboratorio de Citogenética de 1999 a diciembre de 2018.

Métodos. Se realizó un escrutinio, comparativo, ambilectivo y longitudinal; se revisaron y analizaron los resultados históricos de las frecuencias de AC espontáneas e inducidas por DEB y MMC de todos los donadores sanos de muestras de sangre periférica utilizadas como controles negativos. De los reportes de lectura, se obtuvieron promedios, mínimos y máximos por año. Así como se aplicó un cuestionario sobre exposiciones a agentes clastógenos durante los momentos en que les tomaron muestra(s).

Resultados. Se analizaron 150 sujetos con un total de 429 muestras pareadas tanto para las aberraciones espontáneas (AE) como inducidas (iDEB), el promedio general de

AE fue de 0.02 ab/cel (rango=0 a 0.08 ab/cel) y de iDEB fue de 0.04 ab/cel (rango= 0 a 0.16 ab/cel). La aberración cromosómica reportada con mayor frecuencia, fue la de tipo cromatídico tanto en AE como en iDEB. No encontramos relación entre la edad y la presencia de AC.

Conclusiones. Para el laboratorio de citogenética del INP, las frecuencias de AC espontaneas y/o inducidas en sujetos sin patología aparente, tendrían que encontrarse dentro de los rangos obtenidos; de no ser así, el estudio requerirá una segunda revisión. La evidencia científica refiere mayoritariamente que la AC de tipo cromatídico está condicionada por el estrés replicativo de las células en cultivo. El diseño de retrocohorte empleado en el presente estudio, no nos permitió explicar la variabilidad de las frecuencias de AC a lo largo del tiempo. La principal limitación fue que la evaluación de las diversas exposiciones, se hizo en el momento actual.

Introducción

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la molécula encargada de conservar y transmitir la herencia, por lo que es fundamental que su estructura se preserve de generación en generación. Esta molécula se encuentra constantemente expuesta a daño, tanto endógeno como exógeno, lo que ha llevado a la célula a desarrollar mecanismos de reparación que le permiten salvaguardar la integridad del ADN. Cuando estos mecanismos fallan, el daño al ADN puede manifestarse por marcadores de daño, como las aberraciones cromosómicas (AC) que son visibles en preparaciones de metafases. El ensayo de aberraciones cromosómicas, en ocasiones también llamado estudio de fragilidad cromosómica, consiste en registrar la frecuencia de AC por célula en preparaciones que muestran la sensibilidad basal (sin estímulo nocivo alguno) y en preparaciones en las que se utiliza algún agente clastógeno particular. Este ensayo se utiliza para hacer el diagnóstico de enfermedades mendelianas en las que se presenta una deficiencia intrínseca en la reparación del ADN como la Anemia de Fanconi (AF) (2). En la AF, los pacientes tienen un defecto en la vía que repara los enlaces covalentes cruzados (ICL), por lo que para hacer el diagnóstico se reta a las células de los pacientes con agentes

alquilantes bifuncionales como el diepoxibutano (DEB) y la mitomicina C (MMC), este ensayo se acompaña siempre de un control negativo y uno positivo (3).

Los datos de las aberraciones cromosómicas de los individuos quienes fungieron como control negativo para la prueba citogenética del diagnóstico de AF están almacenados en los registros históricos del laboratorio de citogenética en el Instituto Nacional de Pediatría desde 1998. Estos datos se encuentran disponibles en las bases de datos y se cuentan con las hojas de lectura de los ensayos para extraer los datos, clasificarlos y analizarlos.

La posibilidad de describir la presencia de aberraciones cromosómicas en sujetos sanos nos permite conocer cómo se encuentran los mecanismos de reparación de los sujetos aparentemente sanos. Además de obtener un consenso sobre los valores esperados en sujetos sanos analizados en este laboratorio.

Antecedentes

Antecedentes generales

El ADN es una molécula que se encuentra constantemente expuesta a daño, por lo que la célula ha desarrollado mecanismos para prevenir y reparar el daño al ADN. El daño al ADN se puede dividir en 2 tipos de acuerdo al origen del daño: endógeno que se debe mayoritariamente a reacciones químicas propias del metabolismo celular como la hidrólisis y oxidación, así como el estrés replicativo, y el exógeno que es producido por factores ambientales como los rayos ultravioleta (UV), la radiación ionizante o agentes químicos como diepoxibutano (DEB) y la mitomicina C (MMC) (1).

Si el ADN se daña puede tener como consecuencia que se presenten aductos en el ADN, rupturas, mutaciones que afectan bases nitrogenadas individuales (mutaciones génicas), o las que afectan la estructura de los cromosomas (mutaciones cromosómicas) o bien el número de cromosomas (2)

Con el fin de mantener la estabilidad de la molécula, las células cuentan con sistemas de reparación encargados de reconocer y resolver el daño al ADN. Independientemente del tipo de daño, las células responden a los estímulos nocivos

activando el mecanismo de respuesta al daño del ADN o DDR (*DNA damage response*), para censar el daño y reclutar las proteínas de reparación que se requieren específicamente para corregir el daño identificado. Además de la reparación directa de la lesión, la célula también modifica la progresión del ciclo celular para permitir una reparación exitosa. Si la reparación del daño no es llevada a buen término la célula puede mantenerse con daño genómico sub-lethal, para entrar en senescencia o bien ser desechada por apoptosis (3).

La falla en la reparación del daño al ADN o su mala reparación trae consigo consecuencias graves que generan inestabilidad genómica que se manifiesta como aberraciones cromosómicas (AC) que se definen como cambios en el número (aberraciones numéricas) o la estructura normal de los cromosomas (aberraciones estructurales). Para formarse, las aberraciones estructurales requieren que ocurra una o varias rupturas en el ADN que permitan el rearrreglo de los cromosomas. Dichas rupturas pueden ser identificadas en preparaciones en laminilla mediante un “ensayo de aberraciones cromosómicas” que consiste en consignar las diferentes AC identificadas en células arrestadas en metafase y teñidas con tinción homogénea. La morfología de las AC estructurales se relaciona con el tipo de agente que las causa, en particular si su mecanismo de acción es dependiente o no de la fase S del ciclo celular, y de la efectividad del mecanismo de reparación que interviene para subsanar el daño reuniendo a los cromosomas y fragmentos con el fin de que regresen a su estado original, aunque también en otros casos podrían no reunirse o hacerlo de forma incorrecta (2). Esto hace que se distingan dos clases principales de AC estructurales:

Aberraciones de tipo cromosómico (sus siglas en inglés CSA): son aberraciones en las que se afectan las dos cromátidas de un cromosoma. Este patrón es consecuencia de rupturas de doble cadena que no fueron reparadas o que se repararon incompletamente. Generalmente son causadas por clastógenos independientes de fase S que generan su efecto en las fases G₀ o G₁ como la radiación ionizante. Los tipos de AC que se identifican a consecuencia de este tipo de insultos son cromosomas dicéntricos, anillos, fragmentos cromosómicos acéntricos y translocaciones balanceadas. Estas últimas son consideradas AC estables que pueden transmitirse a células hijas, mientras que las otras mencionadas se consideran inestables y son señales efectivas para inducir apoptosis.

Aberraciones de tipo cromatídico (sus siglas en inglés CTA): son aberraciones de tipo cromatídico que afectan únicamente una cromátida. Estas lesiones ocurren en respuesta a clastógenos de fase S que condicionan modificaciones químicas de bases o

rupturas de cadena sencilla, generalmente agentes químicos. Lo que se observa son rupturas cromatídicas e intercambios de cromátidas hermanas (ICH). Aunque la radiación ionizante puede inducir este tipo de daño, dependiendo de la fase del ciclo celular en la que se aplique, generalmente provienen de agentes que son dependientes de fase S y por lo tanto pueden afectar una sola cromátida del cromosoma replicado. Las lesiones que generan estos agentes pueden dar lugar a figuras radiales. Las figuras radiales son formadas a partir de la unión de al menos dos rupturas de doble cadena de cromátidas no hermanas. Las figuras radiales también puede que en la siguiente segregación mitótica generen dicéntricos, translocaciones, deleciones y duplicaciones (2,4).

En la medida en que las técnicas citogenéticas se hicieron práctica común para estudiar la respuesta en linfocitos de sangre periférica a exposiciones diversas, se hicieron estudios que buscaron producir referencias para los niveles de aberraciones cromosómicas espontáneas en sujetos sanos sin exposiciones a agentes clastógenos. Por lo que las AC han sido identificadas como uno de los mejores biomarcadores de exposición temprana a agentes clastógenos (5). Dichos estudios encontraron variabilidad entre los individuos estudiados y reportaron una frecuencia de aberraciones por célula de 0 a 0.067 con una frecuencia promedio de 0.01, también se observó que las AC que se presentaron con mayor frecuencia fueron las de tipo CSA seguidas por CTA y que en conjunto representaron cerca de 90% de las AC reportadas (6). Un autor más concluyó que la variabilidad en la respuesta documentada de su laboratorio se atribuye a las variaciones intra e inter-individuales, más la influencia de las condiciones del ambiente dentro y fuera del laboratorio. Agrego a su estudio la comparación de sus resultados con los de otros laboratorios, los cuales mantenían variabilidad en la respuesta (7).

Se ha relacionado íntimamente a las AC, con el riesgo para desarrollar cáncer, aunque hay controversia sobre si las aberraciones cromosómicas son causa o consecuencia (8). También se ha relacionado la presencia de AC con el envejecimiento celular, en particular con el aumento en la frecuencia de aneuploidías que afecta principalmente a los cromosomas sexuales (9), pero existe suficiente evidencia que relaciona el aumento de la edad con un aumento la presencia de aberraciones cromosómicas. Diversos estudios han buscado la frecuencia de AC espontáneas en individuos sanos para analizar si existe alguna relación entre la frecuencia basal de AC y el riesgo del individuo para desarrollar cáncer(8,10,11).

Antecedentes específicos

Las aberraciones cromosómicas aumentan conforme avanza la edad

En 1988 Bender y colaboradores estudiaron 353 sujetos sanos en un periodo de 3 años, por medio de pruebas de aberraciones cromosómicas en las que documentó rupturas cromatídicas y cromosómicas, anillos y dicéntricos y análisis de intercambio de cromátidas hermanas (ICH), el estudio encontró que el porcentaje basal de células aberrantes en dicha población era de 5.79% y que el porcentaje de células con ICH era de 8.29%, aunque no pudieron demostrar relación significativa con las variables de edad, sexo, hábito tabáquico y la exposición a radiación ionizante (12).

Steenland y colaboradores en el año 1986 realizaron un estudio citogenético en un grupo de trabajadores expuestos a pesticidas. Este grupo se dividió en dos: el primero fue el grupo expuesto, que estaba compuesto de 60 trabajadores que hubiesen tenido contacto con el pesticida; el segundo fue el grupo no expuesto conformado por 42 trabajadores que fungieron como control negativo. Se consideraron variables como la edad, el hábito tabáquico, consumo de alcohol, consumo de cafeína, uso de medicamentos o haber recibido rayos x. Finalmente, se analizaron 80 células por persona para buscar la presencia de ICH y aberraciones cromosómicas de cualquier tipo. En los resultados se descubrió que la edad tenía una correlación con la presencia de aberraciones cromosómicas y se encontró mayor diferencia en los resultados del grupo de 40 años o más. (13)

También Bolognesi y colaboradores en 1997 publicaron un estudio sobre el aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, la presencia de micronúcleos e ICH con relación a la edad. Obtuvieron la información para el análisis citogenético de una base datos colaborativa de 12 laboratorios italianos. En total fueron 2275 sujetos con un rango de edad de 1 a 70 años. El análisis demostró que la edad tenía una relación con el aumento en la presencia de las tres variables, la edad con el aumento más significativo fue de 30-59 y con un punto de aumento máximo a los 70 años. (14)

En 2006, se presentó un estudio en el cual se analizaron 52 personas centenarias y 71 sujetos que fungieron como control negativo, los cuales tenían un rango de edad de 21 a 71 años, con el objetivo de buscar una correlación entre el aumento de la edad y la presencia de aberraciones citogenéticas, se analizaron 200 metafases por sujeto y se incluyeron tanto aberraciones cromosómicas de tipo numéricas como estructurales, además se incluyeron otras variables como los sitios de mayor rompimiento de los cromosomas. Los resultados demostraron que existen diferencias significativas entre los grupos de edad y la cantidad de aberraciones encontradas. Los autores concluyeron que existe una clara relación entre el aumento de la edad y la presencia de aberraciones citogenéticas de todos los tipos. (15)

Las aberraciones cromosómicas como biomarcador de exposición a agentes clastógenos

Un grupo italiano decidió buscar una relación entre trabajadores expuestos a pesticidas, el cáncer de vejiga y la presencia de aberraciones cromosómicas. En el estudio se incluyeron 32 sujetos expuestos que tuvieran cáncer de vejiga, 32 sujetos expuestos y un grupo de control de 31 sujetos sanos sin exposición. Se analizaron aberraciones cromosómicas de tipo numéricas y estructurales, además de considerar también ICH. Los resultados demostraron una diferencia significativa entre los grupos expuestos a pesticidas y el grupo de control, había mayor cantidad de aberraciones en los expuestos y también se encontraron re-arreglos cromosómicos complejos en el grupo con cáncer de vejiga (16).

Posteriormente, se analizó una cohorte de 53 sujetos sanos en la que se evaluaron 1000 metafases de la primera división del ciclo celular por individuo y se registraron las siguientes AC: dicéntricos, anillos, fragmentos acéntricos, rupturas cromatídicas, intercambios cromatídicos, figuras triradiales y tetraradiales. Se buscó la asociación de las AC con el hábito tabáquico para lo cual se clasificó a los sujetos en: no fumadores, fumadores moderados, fumadores severos y ex fumadores. El estudio mostró una diferencia significativa en la frecuencia de aberraciones cromosómicas entre el grupo de fumadores severos (2.5 ab/cel) y los no fumadores (0.9 ab/cel) (17).

En 2005, se realizó un estudio colaborativo que incluyó el análisis de aberraciones cromosómicas en las muestras de 9,776 trabajadores con distintas exposiciones laborales

y 1913 controles negativos estudiados en 15 laboratorios diferentes entre 1975 y 2000 (11). El análisis incluyó la identificación de rupturas cromosómicas, anillos, cromosomas marcadores, dicéntricos, rupturas cromatídicas e intercambios cromatídicos. Estos autores también categorizaron las frecuencias de AC de acuerdo con su distribución en tercios de percentilas, comenzó con bajo grado (percentilas 0-33), grado medio (percentilas 34-66) y alto grado (percentilas 67-100). Los autores identificaron que los sujetos expuestos a radiación ionizante tenían una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas y que los trabajadores expuestos a hidrocarburos aromáticos tenían un riesgo relativo (RR) de 1.56 para el desarrollo de cáncer.

Las aberraciones cromosómicas consideradas como factor de riesgo para desarrollar neoplasias

Para 2008 se reunió la información de distintos laboratorios en los que se hicieron pruebas de biomonitorio en sujetos expuestos a agentes clastógenos en su ambiente laboral. En total se estudiaron 22,358 sujetos de 11 países diferentes en los que se recolectaron datos de 1965 al 2002, se incluyeron en el análisis solo a aquellos sujetos que tuvieran al menos 100 metafases analizadas y se registró la presencia de rupturas cromatídicas, dicéntricos, rupturas cromosómicas, intercambios cromatídicos, anillos, cromosomas marcadores y células aberrantes. El seguimiento promedio fue de 10 años, por la variabilidad de resultados de los diferentes laboratorios, dividieron las frecuencias de AC en baja (percentilas 1-33), media (percentilas 34-66) y alta (percentilas 67-100). A lo largo del seguimiento, 1,043 sujetos desarrollaron cáncer. El análisis reveló que los sujetos con frecuencia baja de AC tenían un RR de desarrollar cáncer de 1, mientras que el RR de los que tuvieron una frecuencia media fue de 1.31, por ultimo los que registraron una frecuencia de AC alta presentaron un RR de 1.41. De acuerdo con el tipo de AC, se identificó que la presencia de CSA confería mayor riesgo. Este análisis indica que el aumento en la frecuencia de AC en individuos con exposición laboral a agentes clastógenos, condiciona un mayor riesgo para desarrollar cáncer (10).

Finalmente, en un estudio de casos y controles, se estudiaron las aberraciones cromosómicas en 2,145 sujetos con un rango de edad de 18 a 70 años. Los sujetos estuvieron expuestos a carcinógenos como radiación ionizante o químicos en un periodo de 21 años. La frecuencia de aberraciones cromosómicas, tanto estructurales como

numéricas en todos los individuos fue de 1.71%. Dentro del grupo de sujetos, 96 desarrollaron cáncer y en 1.82% de sus células encontraron aneuploidías, en su mayoría de tipo hipodiploidia, una alteración cromosómica que se relaciona con los pacientes expuestos a carcinógenos, dando como resultado RR para desarrollar cáncer de 1.26 (8).

La presencia de aberraciones cromosómicas como parte de los síndromes de inestabilidad cromosómica

Un ejemplo claro que asocia la inestabilidad cromosómica con el riesgo de neoplasias son los síndromes de inestabilidad cromosómica (SIC) que son entidades mendelianas producidas por variantes patogénicas que afectan el correcto funcionamiento de genes que se encargan del mantenimiento del ADN. Los fenotipos de los individuos afectados por SIC con falla en la reparación del ADN presentan por un lado un riesgo incrementado para desarrollar cáncer y por otro envejecimiento prematuro. Algunos ejemplos de este tipo de entidades son el síndrome de Nijmegen, el síndrome de Bloom y la anemia de Fanconi (AF) (4). Los individuos que tienen estas condiciones muestran hipersensibilidad a agentes que causan daño al ADN. Esto es tan característico que retar las células de estos pacientes con los agentes a los que son particularmente sensibles se utiliza como prueba diagnóstica. Estos estudios consisten en contrastar la respuesta de las células de los pacientes con SIC a los agentes, contra la de individuos que tienen sistemas de reparación eficientes y responden reparando el daño correctamente.

La prueba de reto con diepoxibutano (DEB) se acepta como estudio de primera línea para el diagnóstico de AF. Con esta prueba se evalúa la cantidad de AC espontáneas e inducidas por agentes inductores de enlaces covalentes cruzados como el DEB o la mitomicina C (MMC). En cada ensayo, se contrasta la respuesta del paciente contra la de un sujeto sano que funge como control negativo (cuyo sistema de reparación funciona adecuadamente y nos sirve como punto de comparación para las pruebas espontáneas e inducidas) y la de una línea celular con defecto en la vía de reparación de Fanconi como control positivo (18)(19). Distintos laboratorios han establecido protocolos independientes para hacer el diagnóstico de AF, teniendo como consecuencia que los fármacos, sus dosis, los tiempos de exposición y el número de metafases evaluadas no sea homogéneo entre protocolos (20–22).

Además, esta prueba requiere de la experiencia del observador pues influye considerablemente en la forma de contabilizar las AC y la manera de interpretar los resultados. Hay laboratorios que consignan metódicamente rupturas cromosómicas, rupturas cromatídicas, figuras de intercambio radial, fragmentos céntricos y acéntricos, cromosomas dicéntricos y gaps, mientras que otros únicamente consignan la presencia de figuras de intercambio radial.

La prueba citogenética para el diagnóstico de AF en el INP

La prueba citogenética para el diagnóstico de AF no es una prueba que se encuentra disponible ampliamente, debido a que los insumos necesarios para realizarla son costosos, no puede ser automatizada y depende de la interpretación de personal altamente capacitado. Debido a estas características de la prueba y la baja frecuencia de la AF en la población, el laboratorio de Citogenética del INP se ha convertido en centro de referencia nacional para el diagnóstico de AF: anualmente se reciben muestras provenientes de la mayoría de los estados del país y a la fecha se han estudiado más de 1000 sujetos. Los resultados de estas pruebas están concentrados en la base de datos de la prueba de aberraciones cromosómicas para el diagnóstico de AF del Laboratorio de Citogenética del INP.

En este laboratorio, la prueba de aberraciones cromosómicas se lleva a cabo desde hace más de 20 años. Para la realización de esta prueba se utiliza un control positivo y un control negativo. A lo largo del tiempo ha habido una gran cantidad de donadores voluntarios, algunos de ellos han donado muestra en múltiples ocasiones (23). Por lo que estos donadores son los controles negativos para analizar en este estudio

Planteamiento del problema

Actualmente, el laboratorio de citogenética del INP cuenta con una base de datos de los ensayos de la prueba citogenética para el diagnóstico de AF, pero no se ha hecho un análisis metódico para describir los rangos y promedios de AC de los sujetos sanos que donaron muestra para fungir como controles negativos de la prueba diagnóstica, lo cual recalca la importancia de crear un consenso interno para poder comparar los datos del laboratorio contra estudios posteriores.

La necesidad de conocer cuál es el comportamiento citogenético de los resultados de la prueba citogenética para el diagnóstico de AF en individuos sanos es importante pues a lo largo de dos décadas de estudio, las variables no modificables (edad, sexo y genética) y las modificables (exposición) pueden analizarse para generar nuevo conocimiento sobre los mecanismos de reparación del ADN en la población de controles negativos de la prueba diagnóstica de AF del laboratorio de citogenética del INP.

Durante el periodo mencionando se han encontrado múltiples donadores sanos recurrentes y se tiene documentada tanto su frecuencia de AC espontáneas, como su respuesta a DEB/MMC, lo cual puede ayudar a hacer una mejor descripción de la frecuencia general y con particularidades individuales. Esta información es ideal para describir la respuesta citogenética a agentes que causan enlaces covalentes cruzados en individuos sanos y al conocer su variabilidad podemos buscar una posible relación entre alguna variable de los sujetos como la edad y la exposición a agentes que causen daño al ADN.

De donde surge la pregunta:

¿Cuál es la frecuencia histórica de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por agentes inductores de enlaces covalentes cruzados en individuos sanos?

Objetivos

Objetivo general

Describir la frecuencia histórica de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por agentes inductores de enlaces covalentes cruzados en individuos sanos donadores de muestra para las pruebas de aberraciones cromosómicas realizadas en el laboratorio de Citogenética del INP.

Objetivos específicos

1. Describir la frecuencia de AC basales y en respuesta a agentes inductores de enlaces covalentes cruzados en individuos sanos.
2. Describir la respuesta citogenética en los donadores recurrentes a lo largo del tiempo.
3. Describir la respuesta citogenética basal e inducida relacionada con la edad y la exposición auto reportada en donadores recurrentes con los que se cuente registro de estos datos.

Material y métodos

Diseño del estudio

Por el objeto es: comparativo

Por el agente es: observacional

Por temporalidad: longitudinal

Por recolección de los datos: ambilectivo (análisis secundario de una base de datos)

Por cronología de los hechos: retrospectivo

Por los sujetos de estudio: homodémico

Material

El presente trabajo se hizo revisando la base de datos y registros históricos de los resultados de las pruebas de aberraciones cromosómicas de 1998 a 2018, dentro del laboratorio de Citogenética del INP. Se creó una sub-base con los registros de interés para esta tesis, se consultaron los resultados en las hojas de lectura disponibles y se incorporaron a la sub-base. De la base de datos de las pruebas citogenéticas se identificaron todos los años disponibles, se cegó la identidad de los sujetos y se les denominó donadores recurrentes a los sujetos en función de haber donado más de 5 veces, se describió la respuesta citogenética basal e inducida de todos los sujetos, se describió la respuesta citogenética a lo largo de los años disponibles de los donadores recurrentes.

La base de datos en Excel contiene la siguiente información: sexo, el número de metafases estudiadas, la descripción de las AC de acuerdo con el tipo que se encuentren (rupturas cromosómicas, rupturas cromatídicas, anillos, dicéntricos, fragmentos, figuras radiadas), la frecuencia de aberraciones cromosómicas por célula, el porcentaje de células aberrantes (anexo fotos de bases de datos).

Se contactó a todos los controles negativos disponibles con más de 18 años, y se dio prioridad a los que tuvieran mayor número de muestras donadas, se les invitó a que contestarán el cuestionario de exposición con previa firma de aviso de privacidad y consentimiento informado. Se agregó la información relacionada con exposición y se relacionó con los estudios de un mismo individuo a través de su número de identificación en la base de datos.

No se emplearon muestras biológicas ni de material genético, ya que el proyecto utilizó registros de datos de aberraciones cromosómicas obtenidas con anterioridad por el ensayo de aberraciones cromosómicas para el diagnóstico de pacientes con anemia de Fanconi.

En el anexo se presenta el formulario de exposición.

Técnicas y procedimientos

La prueba de aberraciones cromosómicas en el Laboratorio de Citogenética se realiza tomando una muestra de sangre de 5 ml, por cada muestra de sangre se hacen dos cultivos de linfocitos, se dejan crecer en un medio de RPMI (Gibco, BRL, Grand Island, NY) y son suplementados con fitohematoglutinina. La mitad de los cultivos son tratados con 0.1 ug/ml DEB (Sigma, St Louis) o 40 ng/ml de mitomicina C desde el principio de la incubación para inducir daño al ADN, la otra mitad de cultivos se usa para el análisis de aberraciones cromosómicas espontáneas. Todos los cultivos son incubados por 72 hrs a 37°C en una incubadora con 5% CO₂ y posteriormente cosechados. La preparación de metafases para análisis se hace usando protocolos estandarizados. El llenado de las hojas de lectura para las aberraciones cromosómicas necesita tener las muestras previamente preparadas para microscopio, se anota únicamente el número de registro de la base de datos, se revisa una metafase contando la cantidad de cromosomas en ella y contando si cuenta con aberraciones cromosómicas, las cuales se van anotando por separado según el tipo de aberración en la hoja de lectura, cuando se termina de analizar una metafase, se continúa con otra hasta haber revisado 25 metafases. Posterior a la descripción de aberraciones, se cuantifica la cantidad de aberraciones por célula y se obtiene la frecuencia de aberraciones cromosómicas por célula de la hoja de lectura.

Análisis de datos

Para describir la respuesta de los sujetos estudiados por ensayo de aberraciones cromosómicas, se obtuvieron las frecuencias de AC por célula espontáneas e inducidas por DEB/MMC de los individuos sanos de la base de datos.

De manera independiente se compararon las frecuencias de AC para determinar si existe diferencia significativa entre la frecuencia basal y la inducida, para buscar las diferencias en las dos condiciones. También se obtuvieron los promedios en general de los sujetos. Se analizará si existen diferencias en el tipo de AC en cada condición y tipo de individuo.

Para conocer la respuesta citogenética de los individuos sanos con múltiples mediciones a lo largo del tiempo, de manera individual se compararon las frecuencias de daño espontáneo e inducido de al menos 5 muestras.

Se usaron los datos del cuestionario de exposición para describir la respuesta citogenética basal e inducida de acuerdo con la edad y diversas exposiciones de los sujetos.

Se ocuparon los softwares de Microsoft Excel (Windows, Versión 16.11.1) y GraphPad Prism 8.0 (GraphPad software) para realizar el análisis de datos

Se ocupó la prueba no-paramétrica U de Mann-Whitney para comparación de medias de dos grupos. Para comparaciones múltiples se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis con corrección de Bonferroni. Se consideraron diferencias significativas cuando las pruebas demuestren una $p > 0.05$ con un Intervalo de Confianza del 95%.

Resultados

I.- Aberraciones Cromosómicas

1.- Descripción de los estudios de aberraciones cromosómicas y los donadores

El archivo contiene 494 estudios citogenéticos de aberraciones cromosómicas independientes. El número de resultados de AC espontáneas fue 493 estudios, de resultados de AC inducidas por DEB fueron 482 e inducidas por MMC de 121. Cuando se buscó correspondencia entre AE y aberraciones inducidas, se identificó que no todos estaban pareados: hubo 12 resultados de AE que no contaban con su contraparte inducida por DEB y solo un estudio que contaba con el resultado inducido por DEB y MMC pero no tenía las AE correspondientes (ver cuadro 1). Para trabajar con ensayos pareados, se eliminaron estos 13 estudios, conservando 360 ensayos pareados únicamente para AE/iDEB y 121 pareados para AE/iDEB/iMMC .

Cuadro 1. Ensayos realizados en función de condiciones experimentales y correspondencias entre ellos.

Ensayos		Sin parear	Pareados (basal y agente)	Total
Condiciones				
Basal	AE	12	481	493
Reto	iDEB	1	360	361
	iDEB/iMMC	0	121	121

El universo de donadores, fue un total de 170 individuos que dieron muestras un número variable de veces: 74% solo 1 vez, 11% 2 veces, 5% 3 veces, 2% 4 veces y 6% donó 5 o más veces. A los 11 integrantes del último grupo, se les determinó como *donadores recurrentes*. Uno de ellos fue excluido pues englobaba bajo el mismo número de identificación despersonalizado todos los estudios en los que el nombre del donador que fungió como control negativo no fue registrado en la bitácora, por lo que finalmente se analizaron 10 donadores recurrentes. (cuadro 2).

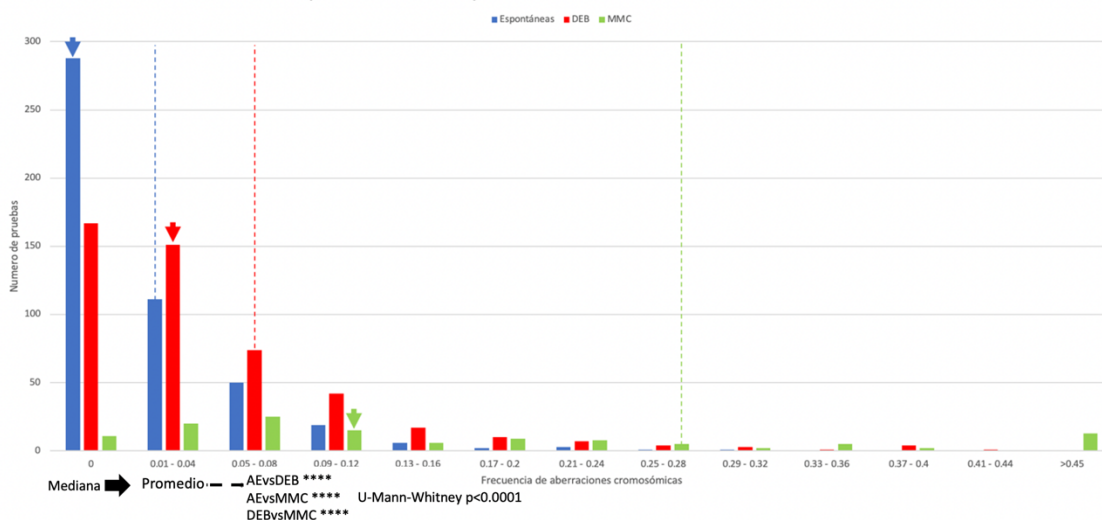
Cuadro 2. Sujetos sanos, según las veces que donaron y condiciones en que se estudiaron.				
n Ensayos	Sujetos n(%)	AE n(%)	DEB n(%)	MMC n(%)
1	126 (74)	126 (74)	124(74)	41(68)
2	19 (11)	20 (12)	19(11)	8(14)
3	10 (6)	9 (5)	10(6)	3(5)
4	4 (2,4)	4 (2.4)	3(2)	2(3)
>5	11 (6.6)	11 (6.6)	11(7)	6(10)
Total de sujetos	170 (100)	170 (100)	167(100)	60(100)

2.- Frecuencias de aberraciones cromosómicas

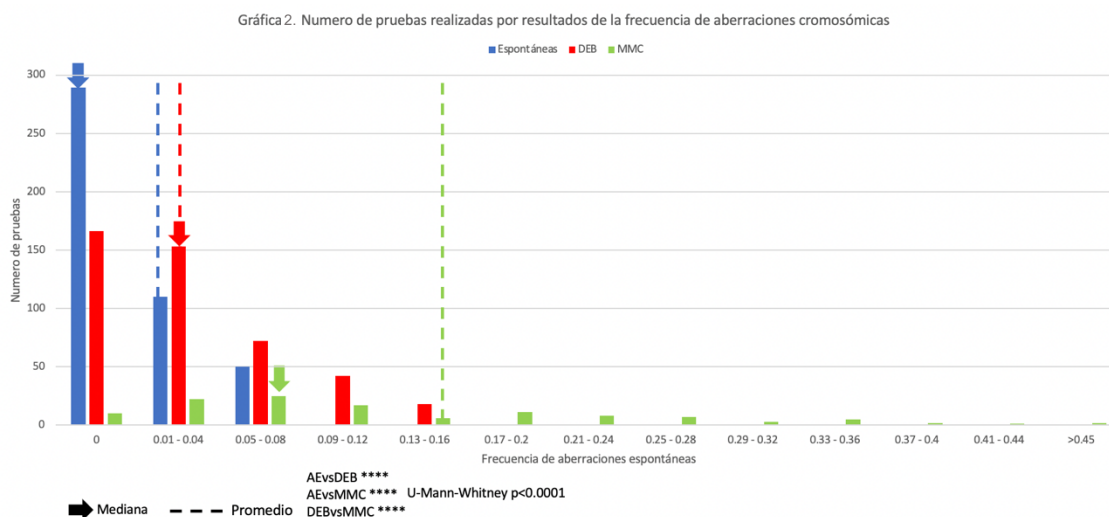
A.- Frecuencias de aberraciones cromosómicas en general

El análisis de las 481 muestras pareadas (AE/ A inducidas) mostró que el promedio de la frecuencia AE fue de 0.03 ab/cel (0.00 – 0.28 ab/cel), mientras que para las inducidas con DEB fue de 0.06 ab/cel (0.00 – 0.36 ab/cel) y las inducidas con MMC de 0.26 ab/cel (0.04 – 0.76 ab/cel). A través de la prueba estadística U de Mann-Whitney, se pone de manifiesto que la inducción de daño con DEB o MMC aumenta significativamente la frecuencia de AC con una $p < 0.0001$ (Gráfica 1).

Gráfica 1. Numero de pruebas realizadas por resultado de la frecuencia de aberraciones cromosómicas



Al eliminar valores atípicos (*outliers*) mediante el algoritmo ROUT, contrajo el número de muestras pareadas a 429 y los donadores se redujeron a 150. Los promedios de las frecuencias de AC y sus respectivos rangos se ajustaron de la siguiente manera: 0.02 ab/cel (0.00 – 0.08 ab/cel) para AE, 0.04 ab/cel (0.00 – 0.16 ab/cel) para iDEB y 0.13 ab/cel (0.00 – 0.48 ab/cel) para MMC (Gráfica 2).

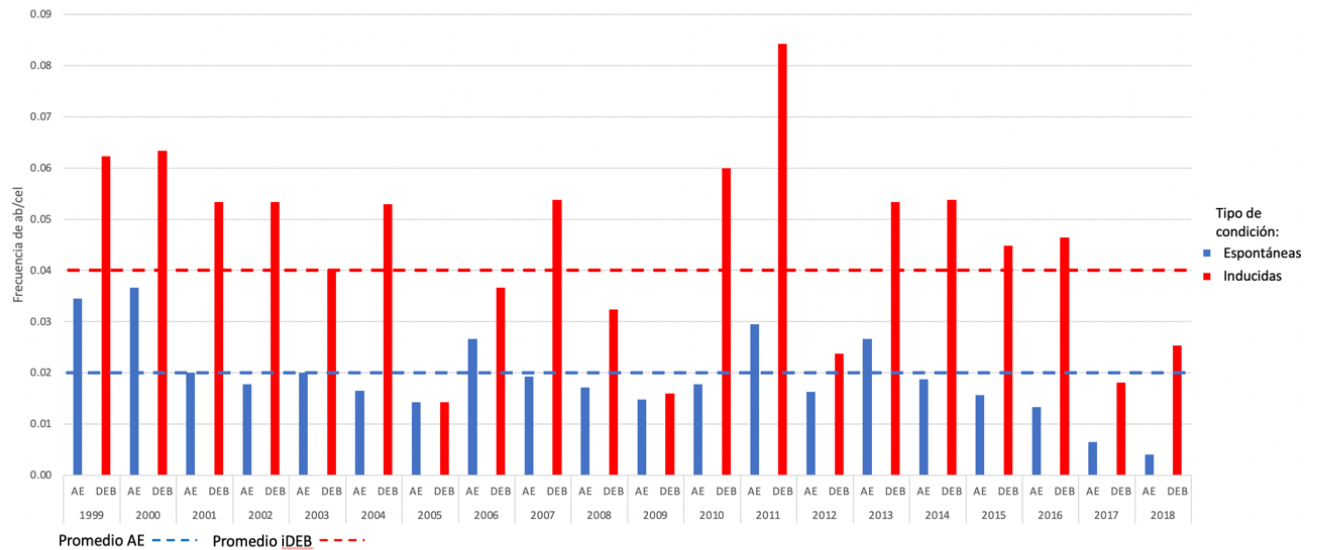


Es evidente que la MMC induce daño significativamente mayor que DEB ($p < 0.0001$), a pesar de la eliminación de los valores atípicos, la respuesta a la MMC resultó muy variable por lo que mantiene rangos amplios. En vista de la gran variabilidad en la respuesta de la inducción de daño con MMC y su desuso en las pruebas diagnósticas, se eliminó del análisis final los resultados de AC iMMC.

B.- Frecuencias de aberraciones cromosómicas en el tiempo

Para la variación de frecuencias en los 20 años de los que se tienen registro, se analizaron los resultados de las AC por año, tanto para el estado basal como para la inducida con DEB (ver gráfica 3).

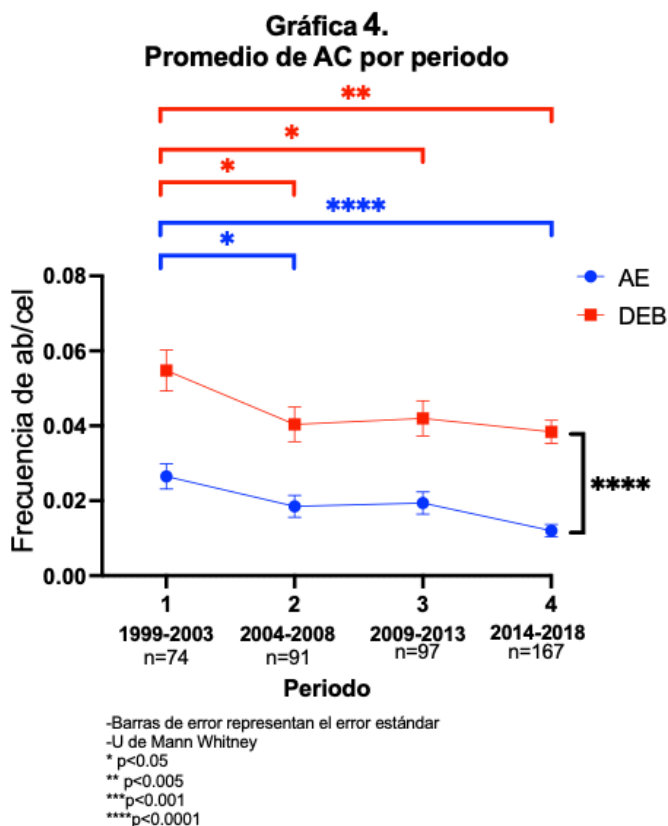
Gráfica 3. Promedio de la frecuencia de AC espontáneas e inducidas por año



El promedio de la frecuencia de AC no es estático hay variabilidad de AC espontáneas e inducidas por DEB a lo largo de los 20 años. El promedio general de AE fue de 0.02 (0.00 – 0.08) y de las iDEB es de 0.04 (0.00 – 0.16). Los años por arriba del promedio general de AE, representan el 25% de los años (5 de 20: 1999, 2000, 2006, 2011, 2013). En el caso de las iDEB, el 60% de los años (12 de 20: 1999, 2000, 2001, 2002, 2004, 2007, 2010, 2011, 2013, 2014, 2015, 2016) estuvo por arriba del promedio general iDEB. Ahora los años con ambas condiciones (AE y iDEB) por arriba del promedio general fueron el 20% (4 de 20: 1999, 2000, 2011, 2013), los únicos años que tuvieron frecuencias de AC por arriba del promedio de forma consecutiva fueron 1999 a 2000, mientras que los años con ambas frecuencias por debajo del promedio general representan el 30% (6 de 20: 2005, 2008, 2009, 2012, 2017, 2018), en este caso los años del 2008 – 2009 y 2017 – 2018 fueron consecutivos.

El 60% de los años superaron el promedio general de DEB. Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con corrección de Bonferroni para comparar los resultados de todos los años entre ellos según la condición del estudio y todas las comparaciones fueron no significativas, salvo cuando se comparó el año 2011 con los años 2009 y 2017, la excepción ocurre al comparar los años con los resultados más extremos. Por último, partir de 2014 podemos notar una disminución en la frecuencia de AC tanto de las espontáneas y las iDEB.

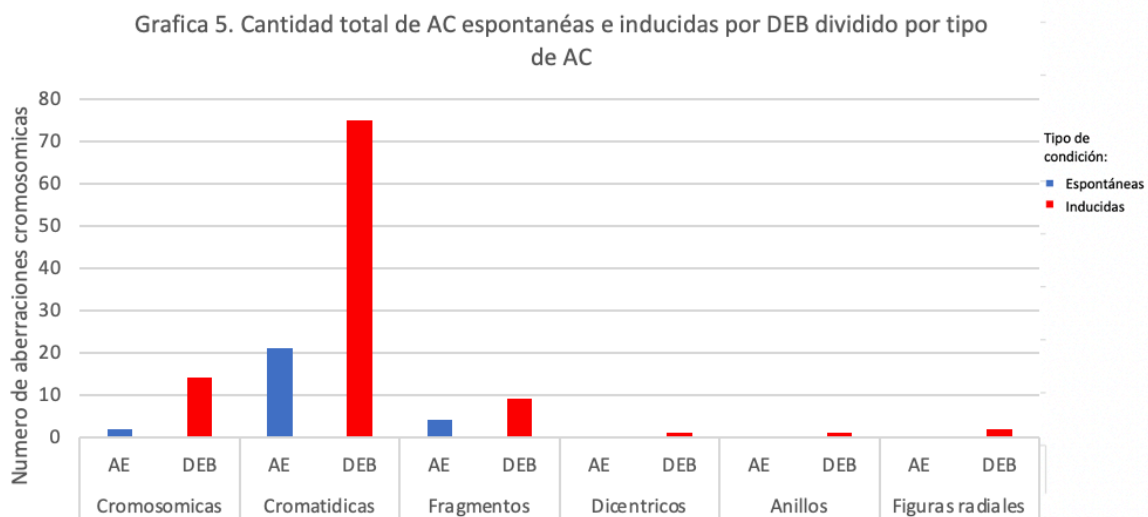
Con el fin de poder analizar mejor las frecuencias de AC y sus variaciones en el tiempo, se analizaron los valores promedio de AC divididos en 4 periodos de 5 años que abarcan los 20 años registrados en la base de datos. De manera consistente, las AE tienen una frecuencia menor que las inducidas con DEB ($p < 0.0001$) (Gráfica 4), corroborando el efecto clastógeno de la exposición a esta dosis de DEB.



En el análisis de la frecuencia de AC se identificó que los periodos 2 (2004-2008) y 3 (2009-2013) no son diferentes entre ellos. Sin embargo, el promedio de la frecuencia de AC de los periodos que están en los extremos el 1 (1999-2003) y el 4 (2014-2018) son significativamente diferentes entre ellos ($p < 0.0001$) y particularmente el periodo 1 cuenta con diferencias en distintos grados con los demás periodos.

3.- Tipo de aberraciones cromosómicas

Se tuvo acceso a 196 hojas de lectura del periodo 4 (2014 – 2018), las cuales provienen de varios donadores. De las hojas de lectura disponibles 98 correspondieron a resultados de aberraciones espontáneas y los 98 restantes a las inducidas con DEB. La siguiente gráfica muestra la cantidad de AC por tipo y tratamiento (Gráfica 5).



El tipo de AC más frecuente corresponde a las AC de tipo cromatídicas. Tanto en las AC espontáneas y en las inducidas por DEB. En análisis de las hojas de lectura mostró que las iDEB reportaron AC: dicéntricas, anillos o figuras radiales, que en las AE no se encontraron.

El promedio general de AC espontáneas fue de 0.02 ab/cel y para de iDEB de 0.04 ab/cel, y el tipo más frecuente el cromatídico. Las frecuencias de AC tuvieron variaciones en el tiempo, con un pico en el promedio en 2011 y baja en el promedio de las frecuencias a partir de 2014. A continuación, se presentan tres factores que podrían estar contribuyendo a la variabilidad: respuesta variable de los individuos (por edad y exposiciones), alteración en el agente (lotes, manejo del agente) y diferencias en la lectura de las pruebas.

II.- Variabilidad en las AC

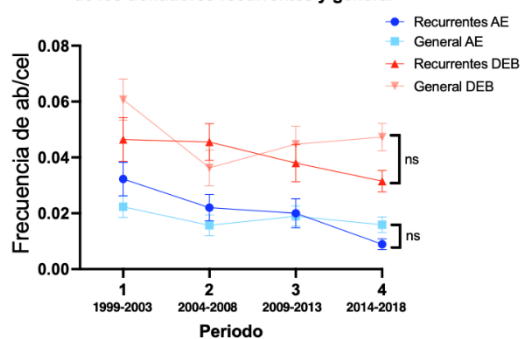
1.- Sujetos

Para comprender el comportamiento individual y la variabilidad de los resultados a lo largo del tiempo, identificamos 10 donadores recurrentes, que habrían donado al menos 5 veces, entre los 150 sujetos de la base. Las muestras de estos 10 sujetos representan 48% (205/429) del total de las muestras analizadas. El análisis individual de las características (Cuadro 3) y los resultados de AC de los sujetos recurrentes permitirá evaluar las variaciones de la frecuencia de AC de un mismo individuo a lo largo de estos 20 años.

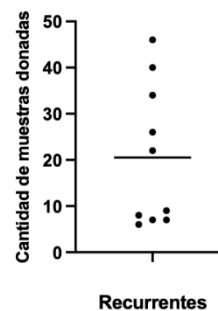
Cuadro 3. Características de los sujetos recurrentes	
Sexo M:F	2:8
Promedio de edad al momento de la toma de muestra	38 años
Rango de edad al momento de la toma de muestra	25 – 57 años
Promedio de tiempo en seguimiento	12 años
Rango de tiempo en seguimiento	3 – 19 años
Exposición a agentes clastógenos	3 sujetos
Enfermedades crónicas	1 sujeto
Medicación	3 sujetos

Los resultados de los estudios de AC realizados en donadores recurrentes tienen valores similares a lo reportado en el universo completo de muestras analizadas a lo largo del tiempo, además que no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) (Gráfica 6).

Gráfica 6. Promedio de AC espontáneas e inducidas de los donadores recurrentes y general



Gráfica 7. Cantidad de muestras donadas



De acuerdo con el número de muestras donadas, se identificaron 2 subgrupos de donadores recurrentes: aquellos que donaron menos de 20 muestras (5 sujetos) [sub-grupo 1] y los que donaron más de 20 (5 sujetos) [sub-grupo 2] (Gráfica 7).

A.- Sub-grupo 1: donadores de menos de 20 muestras

Los sujetos del sub-grupo 1 obtuvieron un promedio de 7 muestras donadas en un promedio de 5 años (4 – 6 años) de seguimiento por año con muestras donadas. El promedio de la frecuencia de AC para AE fue 0.02 ab/cel (0.00 – 0.08) y 0.04 ab/cel (0.00 – 0.16) para el caso de las iDEB, de un total de 37 muestras en conjunto. A todos los donadores se les compararon sus resultados de las frecuencias de AC mediante una prueba de U de Mann-Whitney, se tomaron los resultados de la condición AE y la inducida con DEB y ninguno de los donadores del sub-grupo 1 obtuvo diferencias significativas en sus comparaciones (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características de los donadores recurrentes								
ID	Grupo	Muestras donadas	% participación total (429)	% participación en recurrentes	Rango de años de seguimiento	Cantidad de años con muestras donadas	Consecutivos	AE vs DEB <i>pvalue</i>
98	1	6	1%	3%	1999-2005	4	No	ns
26	1	7	2%	3%	2014-2017	4	Si	ns
72	1	7	2%	3%	2002-2009	6	No	ns
22	1	8	2%	4%	2013-2018	5	No	ns
61	1	9	2%	4%	2007-2018	6	No	ns
147	2	22	5%	11%	2000-2017	13	No	ns
200	2	26	6%	13%	1999-2018	15	No	**
116	2	34	8%	17%	1999-2018	16	No	*
173	2	40	9%	20%	1999-2018	18	No	*
32	2	46	11%	22%	2007-2018	13	Si	***

Los donadores de este grupo en general tienen menos de <10 muestras donadas, las cuales no parecen ser suficientes para mantener una diferencia estadística entre las condiciones AE y DEB. Además, también cuentan con menos de 10 años de seguimiento por año con muestras donadas. Por estas razones decimos continuar el análisis únicamente con el sub-grupo 2 pues obtendríamos un mejor ejemplo del comportamiento de la frecuencia de AC de manera individual.

B.- Sub-grupo 2: donadores de más de 20 muestras

El sub-grupo 2 tuvo un promedio de 33 muestras donadas por donador y el promedio de seguimiento fue de 15 años (12 – 18 años) que contaran con muestra donada. El promedio de la frecuencia de AC para AE fue de 0.02 ab/cel (0.00 – 0.08) y para iDEB 0.04 ab/cel (0.00 – 0.16). Se realizó una U de Mann-Whitney para comprobar la diferencia entre las condiciones AE y DEB, y 4 de los 5 donadores fueron significativos. La cantidad de muestras donadas por los sujetos representa entre el 5 al 11% del total de muestras donadas en general. Dentro del grupo de recurrentes, el sub-grupo 2 donó entre el 11 y el 22% de muestras.

A continuación, se presenta un análisis caso por caso de los individuos del sub-grupo 2, presentados por orden de menor a mayor cantidad de muestras donadas.

Donador 147

El donador recurrente 147 tiene un promedio de AE en 0.03 ab/cel (0.00 – 0.08) y 0.03 ab/cel (0.03 – 0.08) para la iDEB, las muestras de este sujeto abarcan un periodo de 17 años, teniendo seguimiento de los 28 a 45 años, pero únicamente 13 años contaban con resultados. A pesar de que este sujeto cuenta con más de 10 muestras donadas y un periodo de seguimiento de más de 10 años, no se encontraron diferencias entre los resultados de AE e iDEB, esto se puede deber a que el donador tiene el mismo promedio en ambas condiciones. El sujeto no reportó ninguna exposición en su cuestionario.

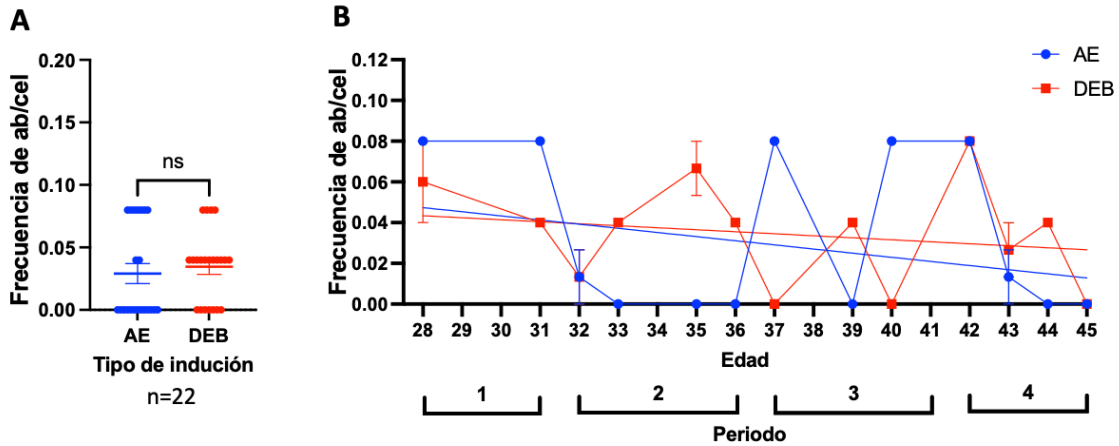


Figura 1. Análisis del donador recurrente 147. **A** Comparación de los resultados de la frecuencia de AC entre las dos condiciones, se buscaron diferencias entre las condiciones a través de U de Mann-Whitney pero no hubo diferencias significativas ($p>0.05$). **B** Gráfica de la frecuencia de AC a lo largo de la edad del donador recurrente, se realizó una prueba de Spearman con un resultado no significativo ($p>0.05$) en las dos condiciones.

Este sujeto cuenta con la menor cantidad de muestras donadas (22) del sub-grupo 2 y cuenta el mayor promedio en la frecuencia de AE. Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con corrección de Bonferroni para comparar los resultados de este donador contra el resto y descartar que fuera muy diferente a los demás donadores, pero no hubo diferencias significativas entre ellos.

Para poder identificar si se podía relacionar el aumento de la frecuencia de AC con el aumento de la edad en los sujetos, se realizó una prueba de correlación de Spearman entre la edad del donador y la frecuencia de AC, se obtuvo un resultado no significativo ($p>0.05$) en ambas condiciones, por lo tanto, en este sujeto la prueba no logra encontrar una correlación. Se colocaron líneas de tendencia para identificar si las frecuencias de AC disminuyen o aumentan a lo largo de la edad y dichas líneas del sujeto se dirigen hacia el 0.

El donador 116 tiene un promedio de 0.02 ab/cel (0.00 – 0.08) en las AE y 0.04 ab/cel (0.00 – 0.12) para las iDEB, los resultados de este donador abarcan un periodo 19 años entre la edad de 37 a 56 años, pero los años contaban con muestras donadas fueron 16.

No se reportó ningún factor de riesgo en el cuestionario de exposición reportado por el donador.

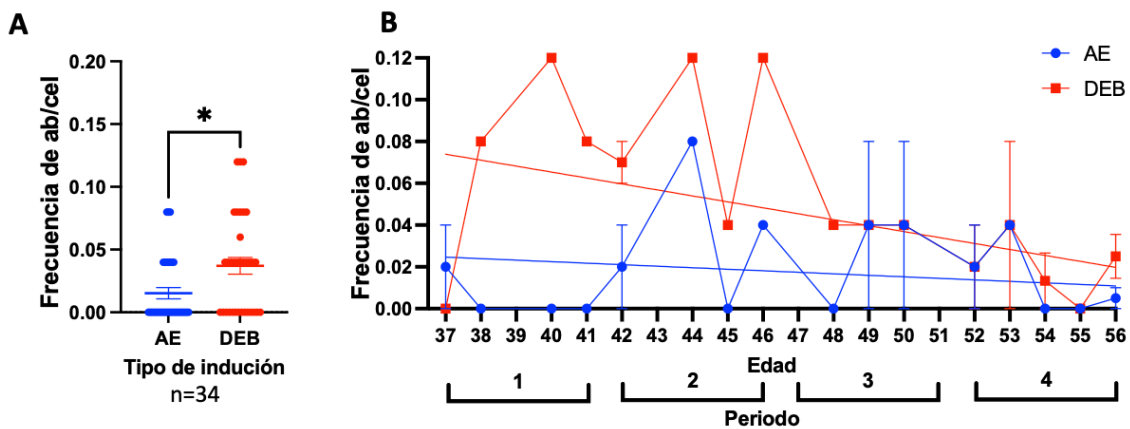


Figura 3. Análisis del donador recurrente 116. **A** Comparación de los resultados de la frecuencia de AC entre las dos condiciones, se demostró una diferencia significativa entre las condiciones con el análisis de U de Mann-Whitney ($p < 0.05$). **B** Gráfica de la frecuencia de AC a lo largo de la edad del donador recurrente, se aplicó una prueba de Spearman con no significancia estadística ($p > 0.05$) para la condición AE, pero DEB tuvo un valor de p de 0.011 con un coeficiente de correlación de -0.42.

Para buscar la relación entre la frecuencia de AC y la edad, se realizó una prueba de Spearman para estas dos variables y no se encontró una relación significativa para la condición de AE, pero la condición iDEB obtuvo un valor de p de 0.011 con un coeficiente de correlación de $r = -0.42$, evidenciando una relación negativa entre las variables. Las líneas de tendencia colocadas en ambas condiciones se aproximan hacia el 0.

El donador 173 tiene un promedio de AE de 0.02 ab/cel (0.00 – 0.08) y 0.04 (0.00 – 0.16) en el caso de las iDEB, sus resultados abarcan un periodo de 20 años entre la edad de 27 y 46 años, de los cuales 18 años contaban con muestras donadas. Este sujeto reportó en su cuestionario de exposición haber mantenido la ingesta de alcohol de forma ocasional desde los 27 hasta los 46 años reportados. Además, reportó consumo de tabaco en dos periodos, el primero va desde los 27 hasta los 30 años y el segundo abarca desde los 41 hasta los 46 años reportados, el consumo se describió como 1 a 2 cigarrillos por día.

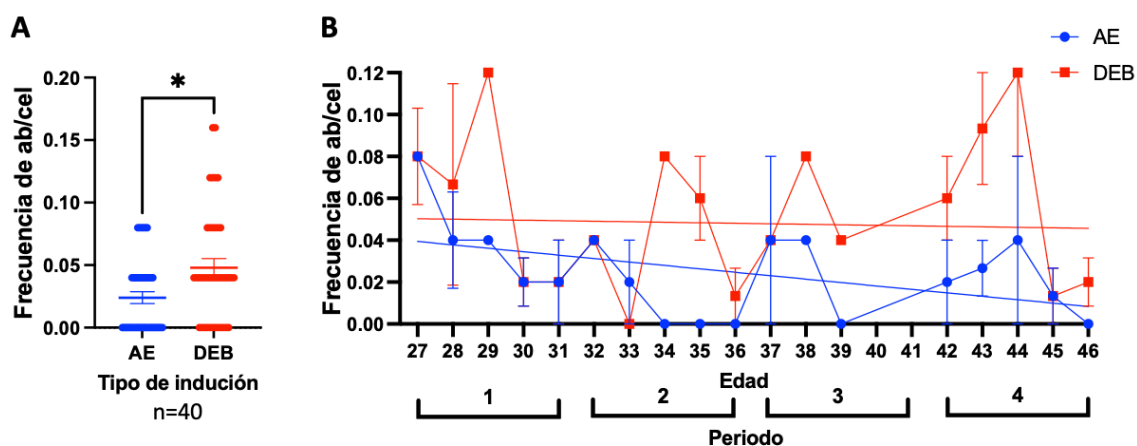


Figura 4. Análisis del donador recurrente 173. **A** Comparación de los resultados de la frecuencia de AC entre las dos condiciones, se demostró una diferencia significativa entre las condiciones con el análisis de U de Mann-Whitney ($p < 0.05$). **B** Gráfica de la frecuencia de AC a lo largo de la edad del donador recurrente, se realizó una prueba de Spearman con resultado no significativo ($p > 0.05$) para la condición AE, pero DEB tuvo un valor de p de 0.01 con un coeficiente de correlación de -0.39.

Al realizar la prueba de Spearman entre la frecuencia de AC y la edad, no hubo significancia estadística en la condición de AE, pero en la condición iDEB se obtuvo valor de $p = 0.015$ y correlación $r = -0.39$, indicando una relación inversamente proporcional entre la edad y la frecuencia de AC en la condición expuesta. En las líneas de tendencia colocadas se puede identificar que para la condición AE, línea se dirige hacia 0 y para iDEB se mantiene de forma horizontal.

El donador 32 tuvo un promedio de AE de 0.01 ab/cel (0.00 – 0.08) y para iDEB de 0.03 ab/cel (0.00 – 0.16), con un periodo de 12 años de resultados consecutivos entre los 26 y 37 años. Este donador cuenta con la mayor cantidad de muestras donadas (46) y además, el sujeto reportó haber estado expuesto, sin equipo de protección a gases desde los 26 años hasta los 37. En el reporte también mencionó consumir tabaco con un hábito de 6 cigarros por día, desde los 26 hasta los 37 años reportados.

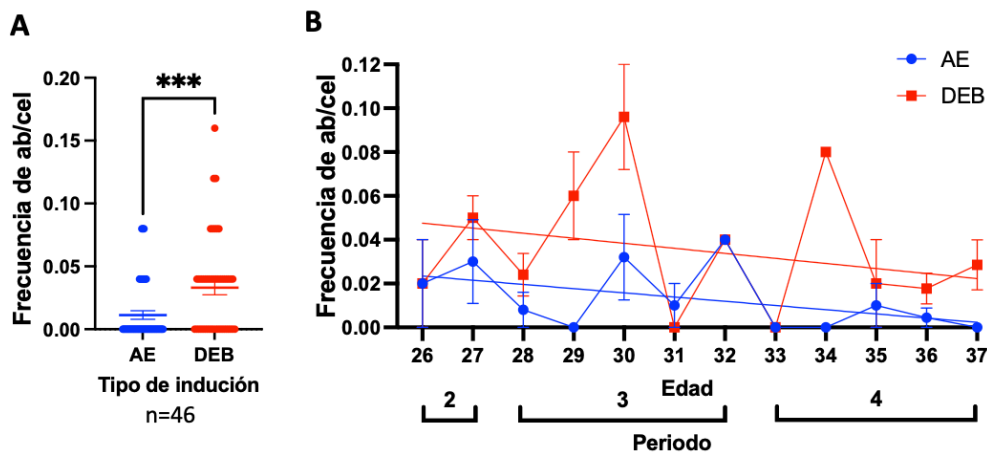


Figura 5. Análisis del donador recurrente 32. **A** Comparación de los resultados de la frecuencia de AC entre las dos condiciones, se demostró una diferencia significativa entre las condiciones con el análisis de U de Mann-Whitney ($p < 0.001$). **B** Gráfica de la frecuencia de AC a lo largo de la edad del donador recurrente, se realizó una prueba de Spearman con significancia estadística ($p < 0.02$) para la condición AE con un coeficiente de correlación en -0.32 y DEB resultado sin significancia estadística ($p > 0.05$).

Al buscar la relación entre la frecuencia de AC y la edad mediante una prueba de Spearman, se obtuvo significancia estadística para la relación entre estas variables para el caso de AE con una $p = 0.02$, con una correlación de $r = -0.32$ y para la condición de iDEB no hubo significancia estadística para la relación. En el caso de AE hay una relación negativa entre la edad y la frecuencia de AC.

Con el objetivo de poder identificar si la disminución de las frecuencias de AC a partir del periodo 4 (2014-) provocó alguna diferencia entre los resultados del conjunto de los periodos 1, 2 y 3 contra el periodo 4, se realizó una U de Mann-Whitney comparando los resultados del mismo donador. Los resultados de esta prueba en todos los donadores del

sub-grupo 2 fueron no significativos, por lo que la disminución en la frecuencia de AC en el periodo 4 no provocó una diferencia significativa entre los resultados del donador. Esto quiere decir que a pesar de que, sí existe una disminución en el periodo 4, esta no altera significativamente los resultados por lo que sigue considerándose dentro de la variabilidad esperada.

La variabilidad en los resultados de los donadores podría ser ocasionado por alteraciones de otra índole, como en el agente usado en las pruebas, ya que podría verse involucrado con el aumento de la frecuencia de AC en 2011 y la disminución de esta a partir del 2014.

2.- Agente

El diepoxibutano es un agente clastógeno que se ocupa en la prueba citogenética para el diagnóstico de AF, este agente se encuentra en estado líquido y debe almacenarse a 4°C.

Se buscaron los registros disponibles sobre el almacenamiento de DEB en el Laboratorio de Citogenética. Únicamente se localizaron los registros de 2 reactivos en las bitácoras: el primero fue abierto en septiembre del 2012 (LMKBC6253X) y el segundo fue abierto en septiembre 2016 (BCBL86). De acuerdo con registros del laboratorio, ambos frascos se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4°C y se comprobó la actividad del DEB a través de la prueba y comparado los resultados con el control positivo.

No se encontró el registro del reactivo utilizado en 2011.

Ahora que analizamos la variabilidad de los donadores recurrentes y comprobamos el estado del agente, queda revisar alteraciones en la lectura de los resultados de las pruebas citogenéticas mediante el análisis de la variabilidad de la lectura de los lectores de las pruebas.

3.- Lectores

De las 429 muestras registradas en la base de datos, 313 muestras fueron leídas por un grupo de 15 lectores, el resto de las pruebas, que corresponden a 116 no tuvieron un lector declarado en los registros. El promedio de muestras leídas por lector es 21 (1 – 109), la participación en total tiene un rango de 0% a 25% por lector y el rango de periodos leídos por lector va de 1 a 4.

Los lectores que únicamente participaron en 1 periodo tenían un rango de 1 a 6 estudios leídos, una participación de 0 a 1% del total, al contar con una cantidad limitada de lecturas decidimos continuar los siguientes análisis para los lectores que tuvieran 2 o más periodos leídos. (Cuadro 5)

Cuadro 5. Características de los lectores con 2 o más periodos trabajados			
Lectores	Total de estudios leídos	% de participación total	Periodos de participación
e	109	25%	4
l	44	10%	2
p	37	9%	2
j	35	8%	3
c	24	6%	3
n	19	4%	2
b	17	4%	3
g	14	3%	3

La variabilidad de los resultados como el pico en la frecuencia de AC en 2011 y la disminución de AC en el periodo 4, podría estar relacionado con variabilidad en la lectura de las pruebas citogenéticas.

Por lo que para evaluar la variabilidad en la lectura de los lectores entre sí (inter-lector), comparamos los resultados de cada lector contra el de los demás y para evaluar la variabilidad del mismo lector (intra-lector), a cada lector se le comparó sus resultados por año y se compararon los años entre sí.

A.- Diferencias inter-lector

Para evaluar qué tan grande es la variabilidad de las lecturas de un lector a otro, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con corrección de Bonferroni para comparar los resultados de cada uno de los lectores entre sí. Los resultados fueron comparados de acuerdo con el tipo de condición, AE o DEB. No se encontraron diferencias significativas entre los lectores ($p > 0.0038$ [límite ajustado por la corrección de Bonferroni]) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Diferencias inter-observador		
Lectores	Diferencias en AE p value	Diferencias en DEB p value
e	ns	ns
l	ns	ns
p	ns	ns
j	ns	ns
c	ns	ns
n	ns	ns
b	ns	ns
g	ns	ns

ns: no significativo

p value ajustado para < 0.0038

Kruskal-Wallis

B.- Diferencias intra-lector

Para evaluar la variabilidad entre las lecturas de un mismo lector, se realizó una comparación entre todos los años de leídos por el lector y se compararon entre sí, mediante una prueba de Kruskal-Wallis con corrección de Bonferroni. Este proceso se repitió con cada uno de los lectores y por condición (Cuadro 7).

Cuadro 7. Diferencias intra-observador		
Lectores	Diferencias en AE p value	Diferencias en DEB p value
e	ns	ns
l	ns	ns
p	ns	ns
j	ns	ns
c	ns	ns
n	ns	ns
b	ns	ns
g	ns	ns

ns: no significativo

p value ajustado para <0.0038

Kruskal-Wallis

Los resultados de las pruebas no arrojaron diferencias significativas ($p > 0.0038$ [límite ajustado por la corrección de Bonferroni]) en ninguno de los lectores.

El análisis de la variabilidad de los lectores nos demostró, que las diferencias existentes no son significativas.

Discusión

Los mecanismos de reparación del ADN son fundamentales para mantener la integridad de la herencia y la falla de los mecanismos nos produce aberraciones cromosómicas, por medio de las técnicas citogenéticas, las AC se han convertido en una herramienta que permite identificar exposición a agentes clastógenos. Además de su uso como método diagnóstico para algunos síndromes de inestabilidad cromosómica en especial para AF. Debido a las características como biomarcador, las AC se han considerado como marcadores del envejecimiento, predictores para desarrollo de cáncer y como marcadores de exposición de daño en trabajadores con cierta exposición laboral.

I.- Aberraciones Cromosómicas

La frecuencia de aberraciones cromosómicas en general

En este estudio, se revisaron los resultados de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por DEB de 150 sujetos de los cuales se obtuvieron 429 muestras. La frecuencia base que obtuvimos fue 0.02 ab/cel (0.00 – 0.08) para el caso de las AC espontáneas y en el caso de las AC inducidas por DEB fue de 0.04 ab/cel (0.00 – 0.16). Existen múltiples trabajos en los que se ha evaluado la frecuencia de AC espontáneas en diversos contextos. Al estudiar los niveles de AC en linfocitos, *Ivanov et al.* identificaron que la frecuencia en mujeres fue de 0.0179 ab/cel mientras que la de los hombres fue de 0.0084 ab/cel (5). También nos podemos comparar con *Santovito et al* quien en su análisis de AC encontró una frecuencia de 0.018 ab/cel en sujetos sanos (24). Por otro lado en un estudio de biomonitorio de daño por exposición a pesticidas, *Steenland et al* identificaron que los sujetos participantes, independientemente de si estuvieron o no expuestos tuvieron una frecuencia de 0.013 ab/cel (13).

Es importante señalar que la mediana obtenida de AC en la condición espontánea es de 0, lo cual reflejaría que los sujetos sanos no suelen presentar daño cromosómico en estado basal.

También tenemos autores que obtuvieron resultados por arriba de lo que nosotros encontramos, como por ejemplo *Gundy et al* reportó una frecuencia de 0.36 ab/cel, lo cual sobrepasa de nuestro rango corregido (7). Este resultado se acerca a nuestro límite reportado. Otro ejemplo es *Mahmoodi et al* quien realizó una comparación de personal de la salud que manejaba anti-neoplásicos contra otro personal que no lo hacía y su resultado fue una frecuencia de 0.20 ab/cel para los no expuestos y 0.24 ab/cel en los expuestos (25). Aunque ambos autores dentro de su metodología consideraron a los *gaps* como parte de su conteo de AC por lo que es normal esperar una mayor frecuencia de AC. También podemos considerar a los factores ambientales como la contaminación, la cual podría estar teniendo un impacto biológico en los resultados de los sujetos (12). Por último a pesar de lo mencionado, los resultados de los autores podrían parecerse a nuestros resultados si consideramos el rango sin *outliers*.

En cuanto a la frecuencia de AC en respuesta a un agente, los únicos trabajos que se identificaron que hacen esa maniobra *in vitro* son lo que como en este caso, lo hacen en el marco de un ensayo para el diagnóstico de AF. En la tabla 8 se hace una comparación entre los hallazgos de este trabajo y lo reportado por *Auerbach et al.* y por *Castella et al.*, dos laboratorios con amplia experiencia en el diagnóstico de AF (21,26). Aunque las condiciones experimentales entre los tres laboratorios no son idénticas, son lo suficientemente parecidas como para ser comparables con nuestros resultados. Las dos diferencias son el tiempo de duración del tratamiento con DEB y el número de metafases analizadas. A pesar de esto, se logra observar el parecido de la media, tanto para las AE como para las inducidas con DEB, esta semejanza respalda que el hallazgo de este trabajo de un promedio de 0.02 ab/cel en AE y 0.04 ab/cel inducidas por DEB, son un resultado esperado en sujetos sanos. Así mismo, los rangos obtenidos en este trabajo también son comparables con lo reportado por los otros autores, debe hacerse notar que la eliminación de valores extremos con el algoritmo ROUT resulta en rangos más estrictos en comparación con los otros laboratorios.

Tabla 8. Comparación de resultados de las frecuencias de aberraciones cromosómicas con otros autores

Protocolo de AC por	Lab Cito 2020					Auerbach 1989					Castella 2011				
Condiciones	Tiempo de cultivo 72 hrs Tratamiento con DEB 0.1 µg por 72 horas Metafases analizadas: 25					Tiempo de cultivo 72 – 96 hrs Tratamiento con DEB 0.1 µg por 48 – 72 hrs Metafases analizadas: 50-100					Tiempo de cultivo 72 hrs Tratamiento con DEB 0.1 µg por 48 hrs Metafases analizadas: 25-50				
Tipo de prueba	N	Promedio	Mediana	Rango	Rango corregido (ROUT)	N	Promedio	Mediana	Min	Max	N	Promedio	Mediana	Min	Max
AE	150	0.02	0.00	0.00–0.32	0.00–0.08	224	0.02	NR	0.00	0.12	105	0.03	NR	0.00	0.24
DEB	150	0.04	0.04	0.00–0.44	0.00–0.16	224	0.06	0.04	0.00	0.36	105	0.06	NR	0.00	0.26

NR: no reportado

Fuente: *Auerbach 1989 y Castella 2011*

La frecuencia de aberraciones cromosómicas en el tiempo

Dentro de nuestro análisis de resultados, pudimos comparar la frecuencia de AC en el tiempo mediante la comparación de periodos (Gráfica 4). Este análisis permitió comprobar que hay variaciones en la frecuencia de AC registrada en el laboratorio a lo largo del tiempo. Sin embargo, el análisis *per se* de la frecuencia de todos los resultados obtenidos en un lapso de tiempo no permite identificar la causa de estas variaciones. Un efecto bien estudiado del tiempo sobre la variación de las AC es el que resulta de la edad de los sujetos, *Wojda et al* mostró que individuos mayores de 40 años tienen una frecuencia de AC significativamente más elevada que sujetos más jóvenes (15). Sin embargo en la serie de datos analizada, aunque hay algunos participantes que donaron muestras a lo largo de todos los periodos evaluados, cada periodo tiene contribución de donadores de edades diversas y se debe pensar en que las variaciones identificadas a lo largo del tiempo pueden también deberse a otros factores además de los donadores como el agente utilizado o la contribución de los lectores.

Tipo de aberraciones cromosómicas

Con respecto al tipo de AC que se identificaron, en este análisis el tipo de AC más frecuente fue el tipo cromatídico tanto en las AE como en las inducidas por DEB (Gráfica 5). Este hallazgo está en línea con lo reportado por otros autores (7), este tipo de AC que afecta únicamente una de las cromátidas del cromosoma ocurre necesariamente después de la fase S del ciclo y suele ser consecuencia de estrés replicativo (4). Además, al ser DEB un agente que condiciona estrés replicativo, es de esperarse que las rupturas cromatídicas sean el tipo de lesión que contribuye al aumento de la frecuencia de AC después de la exposición. Otra observación importante, es que los rearrreglos complejos como los cromosomas dicéntricos, en anillo y las figuras radiales únicamente aparecieron en las preparaciones correspondientes a AC inducidas con DEB. Esto podría indicar que en individuos sanos, se requiere de un estímulo nocivo importante para que los sistemas de reparación no puedan encargarse y resulten en rearrreglos complejos.

Otros autores a diferencia de nosotros encontraron mayor frecuencia en las AC de tipo cromosómico (5,6), pero si consideramos factores ambientales como en el caso de *Ivanov et al* que su población trabajaría en una planta nuclear por lo que no sorprendería que tuvieran exposición a radiación que condicionara mayor cantidad de AC de tipo cromosómico. Cabe recalcar que otro factor que podría aumentar la frecuencia de detección de aberraciones cromosómicas sería uno de interpretación pues una ruptura cromosómica podría tratarse en realidad a dos rupturas de doble cadena, una en cada cromatida, que se encuentren muy cerca entre cromatidas por lo que podría confundirse con una ruptura cromosómica (4).

II.- Variabilidad en las aberraciones cromosómicas

El análisis en el tiempo de las AC reveló que hay variabilidad en la frecuencia de AC a lo largo de los años estudiados. Para poder entender mejor estas variaciones, contemplamos tres factores importantes que podrían estar contribuyendo: los sujetos, el agente y los lectores. Continuaremos el análisis con los sujetos que llamamos “recurrentes”, de los cuales obtuvimos 10 sujetos en total (Tabla 5). Estos sujetos nos permitiran comprender la variabilidad obtenida en nuestros resultados.

Sujetos

De los 150 sujetos contemplados en el estudio 10 fueron donadores recurrentes, es decir que donaron 5 muestras o más. Estos 10 individuos, aunque parezca un número muy limitado de sujetos y que pareciera no ser una muestra representativa (27), tienen un peso muy importante en el total de muestras analizadas, pues en conjunto contribuyeron con casi 50% de las observaciones recopiladas en la base de datos. La diferencia significativa esperada entre la frecuencia de AC basal vs la inducida solamente se evidenció en 4 sujetos, los cuales forman parte del sub-grupo 2 de individuos que donaron más de 20 muestras (Gráfica 7), A pesar de ser un número limitado de sujetos, se decidió analizar individualmente el comportamiento de las AC en el tiempo de los 5 sujetos que contaron con un número suficiente de observaciones.

Sujetos 147 y 200

El sujeto 147 obtuvo 0.03 ab/cel tanto para las AC espontáneas como en las inducidas, con estas frecuencias de AC, es el único sujeto del sub-grupo 2 que a pesar de tener más de 20 observaciones no presenta una diferencia significativa entre el promedio de AC espontáneas y el de las inducidas, ni tampoco para una correlación entre la edad y las AC. Aunque estos valores están dentro de los rangos esperados identificados en este trabajo, pareciera que la ausencia de diferencia entre la basal y la inducida podría deberse a una frecuencia de AC espontáneas más alta. Podría esperarse que una frecuencia de AC espontáneas elevada fuera consecuencia de algún tipo de exposición ambiental. Sin embargo, al revisar el cuestionario de exposición de dicho individuo, no reportó ninguna exposición que pudiera relacionarse con esto. Pero debemos recordar, que este es un estudio retrospectivo que sin duda tiene limitantes por sesgos de selección y de información, ya que los cuestionarios indagan sobre exposición de años anteriores, y la memoria de los encuestados podría alterar sus respuestas (28).

En el sujeto 200 se obtuvo 0.01 ab/cel y 0.03 ab/cel de forma basal e inducida respectivamente. El sujeto reportó tomar medicamento pero este no está relacionado con alteraciones en la frecuencia de AC. Este individuo si presentó una diferencia significativamente entre el promedio de AC espontáneas y el de las inducidas, lo cual es esperado cuando inducimos daño a las células. Por último no obtuvimos una correlación entre la edad de este sujeto y las AC.

Sujetos 116, 173 y 32

El sujeto 116 obtuvo 0.02 ab/cel de forma basal y 0.04 de forma inducida. La frecuencia obtenida por el sujeto 173 es de 0.02 ab/cel de forma basal y 0.04 ab/cel de forma inducida por DEB. En el sujeto 32 la frecuencia basal fue de 0.01 ab/cel y una frecuencia con daño inducido de 0.03 ab/cel. Dentro de estos sujetos se encontró una correlación significativa para la condición inducida con DEB, tanto para 116 y 173 con un coeficiente de correlación de $r=-0.42$ y $r=-0.39$ respectivamente. También el sujeto 32 obtuvo una correlación significativa pero para la condición basal y con un coeficiente de correlación de $r=-0.32$.

Estas correlaciones negativas, que implican que a mayor edad menor es la frecuencia de AC estudiadas, nos llamó la atención debido a que otros autores han

documentado una relación directa entre la edad y la frecuencia de AC. Wojda y colaboradores obtuvieron una correlación positiva de $r=0.365$ en hombres y $r=0.41$ en mujeres con relación entre la edad y la presencia de AC (15). *Steenland et al* también encontró una relación entre la edad y las AC porque reportó una diferencia significativa en los sujetos que tenían más de 40 años contra los de menos de 40 de acuerdo al total de aberraciones por célula (13).

Recordemos que el proceso de replicación que permite la duplicación del material genético de la célula es un evento que favorece que haya senescencia por acumulación de errores replicativos. A mayor número de divisiones celulares, mayor acúmulo de errores que puede derivar en inestabilidad genética (3).

No sorprende que varios autores hayan demostrado que las aberraciones cromosómicas son un marcador de envejecimiento y se hayan obtenido correlaciones positivas en sus resultados (15,29). A diferencia de estos autores, nosotros no comparamos grupos etarios distintos pero hicimos un análisis longitudinal retrospectivo del sub-grupo 2 de los recurrentes, en algunos casos hasta por 20 años. Con nuestra aproximación, no fue posible identificar un aumento de la frecuencia de AC en el tiempo para un mismo individuo.

Ahora tratándose de la condición inducida con DEB que a pesar de que no hay estudios que usen específicamente diepoxibutano como agente clastógeno, *Gorbunova et al* concluyó que existe evidencia suficiente que indica que los mecanismos de reparación del DNA se vuelven menos eficientes mientras aumenta la edad. Por lo que nosotros esperaríamos un coeficiente de correlación positiva entre el aumento de la edad y la presencia de AC en condiciones de exposición (30).

Para terminar con las correlaciones en el tiempo, el sujeto 32 tenía 46 muestras donadas, repartidas entre los 12 años de resultados consecutivos, pero no se encontró tampoco una correlación. Una posible razón de este resultado es que los cambios en la frecuencia de AC relacionado con la edad se han visto evidenciados a partir de los 40 años (8,13,15) o hasta edades más avanzadas (29). Puesto que al momento de donar la última muestra registrada el sujeto tenía 37 años, es posible que aun no haya llegado a una edad en la que se observa el aumento de las AC consecuencia de la edad.

Por último hablando sobre el hábito tabáquico de los sujetos 173 y 32, *Stephan et al* reportó una diferencia significativa únicamente en los fumadores severos (>30 cigarrillos diarios) en comparación con los demás.

Considerando que los únicos dos sujetos que reportaron hábito tabáquico, dijeron tener un consumo de 1-2 cigarrillos por día y 6 cigarrillos por día. Su consumo se encuentra fuera de los rangos que podrían marcar una diferencia significativa como los fumadores severos mencionados por *Stephan et al.* (17). No debemos olvidar que aunque cada uno de estos individuos tiene un número importante de observaciones la muestra de 5 es muy pequeña (27).

Agente

El agente utilizado puede ser una fuente de variación en los resultados a lo largo del tiempo. Al tratarse de un estudio que abarca un lapso de 20 años, es obvio que todos los ensayos no se realizaron con el mismo agente. Sin embargo, se han tomado medidas para limitar que el agente sea un foco de variabilidad. Para empezar, durante todo el tiempo que se ha realizado el estudio, el DEB ha sido surtido por el mismo fabricante (Sigma). Además dicho agente es manipulado por un número limitado de personas que están familiarizadas con las precauciones que deben tenerse para asegurar su estabilidad. De acuerdo con registros de las bitácoras del Laboratorio de Citogenética, los últimos dos viales stock de DEB fueron abiertos uno en el 2012 y el otro en el 2016, y fueron debidamente almacenados a una temperatura de 4°C, como recomiendan otros investigadores (22). Para evitar la pérdida de efectividad del reactivo, la solución de trabajo de DEB se preparó fresca cada vez que se montó un ensayo y se desechó en los siguientes 4 días para evitar usar una solución que hubiera perdido su efectividad (20). Algunos grupos sugieren el recambio frecuente del stock del agente, así como el control de su efectividad sometiendo a tratamiento a una línea celular deficiente para una proteína de la vía FA/BRCA (control positivo). En el Laboratorio de citogenética, el stock no se recambia con tanta frecuencia pero la efectividad del agente sí se prueba regularmente, de tal suerte que es posible detectar si el agente ha perdido su capacidad clastógena.

A pesar de todas las precauciones que se toman habitualmente en el manejo y uso del agente DEB, no encontramos registros en las bitácoras respecto al manejo específico del DEB que se utilizó en los periodos de mayor variabilidad, por lo que no se puede descartar que el agente pudiera influir en la variabilidad de los resultados de AC en el tiempo, en particular puesto que la mayor variación se observa en los promedios de los ensayos con reto de DEB (Gráfica 3).

Lectores

Finalmente, la variabilidad de los resultados obtenidos podría estar relacionada con los lectores de los ensayos. A lo largo de los 20 años estudiados, se identificaron un total de 15 lectores que en el transcurso de ese tiempo analizaron ensayos en algún momento. Analizamos la variabilidad de los lectores entre sí (inter-lector, Cuadro 7) y la variabilidad de un mismo lector contra sí mismo (intra-lector, Cuadro 8), y no identificamos diferencias significativas en ninguno de los casos. Esto habla de que los lectores de AC del Laboratorio de Citogenética, quienes tienen un entrenamiento especial y años de experiencia, son consistentes en sus lecturas y hay una lectura armonizada entre los distintos lectores que da resultados comparables. Una manera de calibrar mejor la lectura de quienes analizan estos ensayos sería seguir el ejemplo de Bender y cols y duplicar el análisis por otros observadores para asegurar que no hay sesgos inter-observador (10).

Debemos de agregar que como parte de la búsqueda de sesgos dentro de los lectores, podemos mencionar que los profesionales de la salud se enfrentan a múltiples sesgos diariamente, tienen hasta 10 sesgos que deben considerar para evitar errores (31). No hay información sobre sesgos de los lectores en citogenética pero no deben de estar exentos. Por lo que a pesar de que nuestros resultados nos arrojan una lectura uniforme con pocas o nulas diferencias en el análisis intra-lector e inter-lector, se necesitan crear herramientas para disminuir los posibles sesgos en estos trabajadores.

Conclusiones

Los resultados de este estudio señalan que la frecuencia de aberraciones cromosómicas tiene un rango amplio de 0 a 0.32 ab/cel para el reporte basal y de 0 a 0.44 ab/cel para la inducción por DEB en los sujetos sanos del laboratorio de Citogenética del INP, y el rango estricto es de 0 a 0.08 ab/cel para las basales y 0 a 0.16 ab/cel para las inducidas por DEB. Con base en la información obtenida cualquier resultado de un sujeto sano que se encuentre fuera de los rangos establecidos ameritaría una segunda revisión para confirmar el resultado.

El resultado del tipo de aberración más frecuente tanto en la condición basal como en la inducida con DEB fue la ruptura cromatídica, también la gran mayoría de los reportes científicos, han considerado que esta AC es posterior a la fase S del ciclo celular como consecuencia a estrés replicativo.

Los registros de la frecuencia de AC a través del tiempo en el laboratorio, mostraron gran variabilidad de frecuencia en el estado basal (espontáneas) y sobre todo en la condición inducida por DEB. Esta variabilidad no se explica por la edad de los sujetos analizados, ya que no encontramos correlación, como otros estudios poblacionales. Hicimos un seguimiento limitado de los sujetos donadores frecuentes, mismos que en el momento actual no cumplen la edad donde se espera diferencia en la presencia de AC. Finalmente, la variabilidad de los resultados tampoco fue explicada por alteraciones en el agente o la forma de revisión de los lectores de las muestras.

La variabilidad de la frecuencia de las aberraciones cromosómicas en el tiempo, no se logró explicar con el diseño retrolectivo de seguimiento de sujetos.

Bibliografía

1. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis: DNA Damage and Repair. *Environ Mol Mutagen.* junio de 2017;58(5):235–63.
2. Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I, Kirsch-Volders M. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie.* noviembre de 2006;88(11):1515–31.
3. Juárez-Figueroa U, Ayala-Zambrano C, Reyes P, Frías S. Origen y consecuencias de la inestabilidad genómica Síndromes de inestabilidad cromosómica. *MENSAJE BIOQUÍMICO.* 2018;42(42):64–80.
4. García-de-Teresa B, Rodríguez A, Frías S. Chromosome Instability in Fanconi Anemia: From Breaks to Phenotypic Consequences. *Genes.* el 21 de diciembre de 2020;11(12):1528.
5. Ivanov B, Praskova L, Mileva M, Bulanova M, Georgieva I. Spontaneous chromosomal aberration levels in human peripheral lymphocytes. *Mutat Res Mol Mech Mutagen.* diciembre de 1978;52(3):421–6.
6. Kašuba V, Šentija K, Garaj-Vrhova V, Fučić A. Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from control individuals. *Mutat Res Lett.* abril de 1995;346(4):187–93.
7. Gundy S, Varga LP. Chromosomal aberrations in healthy persons. *Mutat Res Lett.* mayo de 1983;120(2–3):187–91.
8. Farkas G, Jurányi Z, Székely G, Kocsis ZS, Gundy S. Relationship between spontaneous frequency of aneuploidy and cancer risk in 2145 healthy Hungarian subjects. *Mutagenesis.* septiembre de 2016;31(5):583–8.
9. Russell LM, Strike P, Browne CE, Jacobs PA. X chromosome loss and ageing. *Cytogenet Genome Res.* 2007;116(3):181–5.
10. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, Stromberg U, Vermeulen R, Znaor A, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis.* el 15 de abril de 2008;29(6):1178–83.
11. Rossner P, Boffetta P, Ceppi M, Bonassi S, Smerhovsky Z, Landa K, et al. Chromosomal Aberrations in Lymphocytes of Healthy Subjects and Risk of Cancer. *Environ Health Perspect.* mayo de 2005;113(5):517–20.
12. Bender MA, Preston RJ, Leonard RC, Pyatt BE, Gooch PC, Shelby MD. Chromosomal aberration and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample. *Mutat Res Toxicol.* marzo de 1988;204(3):421–33.
13. Steenland K, Carrano A, Ratcliffe J, Clapp D, Ashworth L, Meinhardt T. A cytogenetic study of papaya workers exposed to ethylene dibromide. *Mutat Res Toxicol.* junio de 1986;170(3):151–60.
14. Bolognesi C, Abbondandolo A, Casalone R, Dalprà L, De Ferrari M, Degrassi F, et al. Age-related Increase of Baseline Frequencies of Sister Chromatid Exchanges, Chromosome Aberrations, and Micronuclei in Human Lymphocytes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* abril de 1997;6:249–56.
15. Wojda A, Zietkiewicz E, Mossakowska M, Pawlowski W, Skrzypczak K, Witt M. Correlation Between the Level of Cytogenetic Aberrations in Cultured Human Lymphocytes and the Age and Gender of Donors. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* el 1 de agosto de 2006;61(8):763–72.
16. De Ferrari M, Artuso M, Bonassi S, Bonatti S, Cavalieri Z, Pescatore D, et al.

Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister-chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res Toxicol.* mayo de 1991;260(1):105–13.

17. Stephan G, Pressl S. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes from healthy subjects as detected in first cell division. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen.* diciembre de 1999;446(2):231–7.

18. Fanconi Anemia: Guidelines for Diagnosis and Management, Fourth Edition. :431.

19. Dufour C. How I manage patients with Fanconi anaemia. *Br J Haematol.* julio de 2017;178(1):32–47.

20. Oostra AB, Nieuwint AWM, Joenje H, de Winter JP. Diagnosis of Fanconi Anemia: Chromosomal Breakage Analysis. *Anemia.* 2012;2012:1–9.

21. Castella M, Pujol R, Callen E, Ramirez MJ, Casado JA, Talavera M, et al. Chromosome fragility in patients with Fanconi anaemia: diagnostic implications and clinical impact. *J Med Genet.* el 1 de abril de 2011;48(4):242–50.

22. Auerbach AD. Diagnosis of Fanconi Anemia by Diepoxybutane Analysis. *Curr Protoc Hum Genet* [Internet]. abril de 2015 [citado el 13 de septiembre de 2021];85(1). Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142905.hg0807s85>

23. Esmer C, Sánchez S, Ramos S, Molina B, Frias S, Carnevale A. DEB test for Fanconi anemia detection in patients with atypical phenotypes: AF in Patients With Atypical Phenotypes. *Am J Med Genet A.* el 1 de enero de 2004;124A(1):35–9.

24. Santovito A, Cervella P, Delpero M. Baseline frequency of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of healthy individuals living in Turin (North-Western Italy): assessment of the effects of age, sex and GSTs gene polymorphisms on the levels of genomic damage. *Ann Hum Biol.* el 3 de mayo de 2016;43(3):269–78.

25. Mahmoodi M, Soleyman-Jahi S, Zendeheel K, Mozdarani H, Azimi C, Farzanfar F, et al. Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, and micronuclei in lymphocytes of oncology department personnel handling anti-neoplastic drugs. *Drug Chem Toxicol.* el 3 de abril de 2017;40(2):235–40.

26. Auerbach A, Rogatko A, Schroeder-Kurth T. International Fanconi Anemia Registry: relation of clinical symptoms to diepoxybutane sensitivity. :7.

27. García-García JA, Reding-Bernal A, López-Alvarenga JC. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investig En Educ Médica.* octubre de 2013;2(8):217–24.

28. Hernández-Avila M, Garrido F, Salazar-Martínez E. Sesgos en estudios epidemiológicos. *Salud Pública México* [Internet]. septiembre de 2000 [citado el 30 de septiembre de 2021];42(5). Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342000000500010&lng=es&nrm=iso&tlng=es

29. Erceg P, Milosevic DP, Despotovic N, Davidovic M. Chromosomal changes in ageing. *J Genet.* diciembre de 2007;86(3):277–8.

30. Gorbunova V, Seluanov A, Mao Z, Hine C. Changes in DNA repair during aging. *Nucleic Acids Res.* el 26 de noviembre de 2007;35(22):7466–74.

Anexos

Base de la frecuencia de AC

1. FECHA (DD/MM/AA)	1. REALIZO	CODIGO CONTROL NEGATIVO	1. AE CONTROL -	1. DEB CONTROL -	1. MMC CONTROL -
13/04/99	a	116	0.04	0.00	N/A
24/05/99	a	116	0.00	0.00	N/A
07/06/99	a	81	0.04	0.04	N/A
02/08/99	a	88	0.04	0.04	N/A
21/09/99	a	98	0.04	0.04	N/A
01/10/99	a	53	0.04	0.00	N/A
01/10/99	a	173	0.08	0.04	N/A
11/10/99	a	173	0.08	0.12	N/A
09/11/99	a	130	0.04	0.16	N/A
15/11/99	a	189	0.00	0.00	N/A
26/11/99	a	119	0.04	0.04	N/A

Base de hojas de lecturas

ID	AE/DEB	Cromosomico	Cromatidico	Fragmentos	Anillos	Dicentricos	Figuras	Frecuencias	Metafasas	Porcentaje de células aberrantes
447-14	AE	1	0	0	0	0	0	0.04	24	4.17%
447-14	DEB	1	2	0	0	0	0	0.12	25	12.00%
459-14	AE	0	1	0	0	0	0	0.04	25	4.00%
459-14	DEB	0	1	0	0	0	0	0.04	25	4.00%
463-14	AE	0	0	0	0	0	0	0	24	0.00%
463-14	DEB	1	1	0	0	0	0	0.08	24	8.33%
517-14	AE	0	2	0	0	0	0	0.08	25	8.00%
517-14	DEB	1	1	0	0	0	0	0.08	25	8.00%
520-14	AE	0	0	0	0	0	0	0	25	0.00%
520-14	DEB	0	1	2	0	0	0	0.12	25	12.00%
528-14	AE	0	0	0	0	0	0	0	25	0.00%
528-14	DEB	0	0	0	0	1	0	0.04	25	4.00%

Base de donadores recurrentes

ID	Sexo	Fecha de nacimiento	Enfermedades	Metales	Polvos	Químicos	Gases	Radiación	Agentes biológicos	Ruido excesivo, calor o frío extremo	Uso de equipo de protección	Ingiere agua filtrada	Edad	
26	Masculino	31/05/87	No	Si	Si	Si	No	No	No	No	Si	Si	31/12/18	32
61	Femenino	07/07/82	No	No	No	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	31/12/18	36
147	Femenino	18/08/72	S/D	No	Si	No	No	Si	Si	No	Si	Si	31/12/18	46
116	Femenino	09/07/61	No	S/D	S/D	Si	S/D	Si	Si	S/D	Si	Si	31/12/18	57
173	Femenino	15/04/72	No	No	No	Si	No	Si	Si	No	Si	Si	31/12/18	47

Formato de captura de datos

Este cuestionario de exposición es el instrumento por el cual se colecta la información necesaria para poder llevar a cabo el objetivo "Correlacionar la respuesta citogenética basal e inducida con la edad, el sexo y la exposición autoreportada en individuos sanos", consta de 3 secciones y contestarlo toma un promedio de 30 mins.

Anexo 1. Cuestionario de Exposición

Identificador ID: _____

Proyecto: "Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas en el Laboratorio de Citogenética"

Nombre: _____

Dirección: _____

Telefono: _____ Correo electrónico: _____

Sexo: Masculino: Femenino: Fecha de nacimiento (AAAA/MM/DD): (_____/____/____)

Enumere los sitios de trabajo y la función que usted desempeño en los ultimos 20 años:

Periodo	Lugar de trabajo	Función desempeñada
Fecha de inicio: _____		
Fecha de termino: _____	_____	_____

Periodo	Lugar de trabajo	Función desempeñada
Fecha de inicio: _____		
Fecha de termino: _____	_____	_____

Periodo	Lugar de trabajo	Función desempeñada
Fecha de inicio: _____		
Fecha de termino: _____	_____	_____

Padece alguna enfermedad: Si ¿Cual/es?: _____ No

I.- Historia de exposición

Conteste las siguientes preguntas sobre exposición a agentes a lo largo de su vida adulta.

- | 1.- ¿Ha estado expuesto a alguno de los siguientes agentes?: | No | Si |
|---|--------------------------|--------------------------|
| Metales | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Polvo o fibras | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Químicos | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Gases | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Radiación | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Agentes biológicos | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Ruido excesivo, calor o frío extremo | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2.- ¿Alguno de los individuos con quienes comparte casa ha estado en contacto con estos componentes? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3.- ¿Conoce alguno de los nombres de los componentes a los que ha estado expuesto? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4.- Al exponerse a estos agentes, ¿Usó usted equipo de protección como guantes, mascarilla, respiradores o protectores de oídos? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5.- ¿Lava su ropa de trabajo en casa? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6.- ¿Vive usted, cerca de una industria, centro comercial, basurero o un área no residencial? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7.- ¿Usa pesticidas o herbicidas (mata insectos o mata hierba; sprays anti pulgas o garrapatas, polvos o champú) en su casa, jardín o mascotas? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8.- En casa, usted bebe: | | |
| Agua embotellada | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Agua de la llave hervida | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Agua de la llave sin hervir | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Agua filtrada | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

II.- Historia laboral

Revise el siguiente cuadro y marque con una cruz los agentes a los que haya estado expuesto en su vida laboral. Por cada agente identificado, favor de completar la descripción detallada en los espacios que se encuentran al final de este documento en las páginas 6 y 7.

<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Polvos o humos <input type="checkbox"/> Asbestos <input type="checkbox"/> Humo de metal por soldar <input type="checkbox"/> Humo de plástico <input type="checkbox"/> Fibra de vidrio <input type="checkbox"/> Sílice <input type="checkbox"/> Talco <input type="checkbox"/> Polvo general <input type="checkbox"/> Humo de auto <input type="checkbox"/> Otros polvos o humo: _____ 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Elementos o metales <input type="checkbox"/> Aluminio <input type="checkbox"/> Arsénico <input type="checkbox"/> Cadmio <input type="checkbox"/> Cromo <input type="checkbox"/> Metal "duro" <input type="checkbox"/> Plomo <input type="checkbox"/> Mercurio <input type="checkbox"/> Níquel <input type="checkbox"/> Otros elementos o metales: _____ 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Solventes <input type="checkbox"/> Alcohol o glicol <input type="checkbox"/> Éter de glicol <input type="checkbox"/> Benceno, xileno y tolueno <input type="checkbox"/> Tetracloruro de carbono <input type="checkbox"/> Pintura o barniz <input type="checkbox"/> Éter de petróleo <input type="checkbox"/> <u>Tricloroetileno</u> <input type="checkbox"/> <u>Tetracloroetileno</u> <input type="checkbox"/> Otros solventes: _____
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Otros químicos <input type="checkbox"/> Ácidos <input type="checkbox"/> Amoníaco <input type="checkbox"/> Otros álcalis (cáusticos) <input type="checkbox"/> Jabones <input type="checkbox"/> Tintes <input type="checkbox"/> Formaldehido <input type="checkbox"/> Resina de plástico <input type="checkbox"/> Pesticidas <input type="checkbox"/> Perfumes <input type="checkbox"/> Adhesivos o pegamentos <input type="checkbox"/> <u>Isocianatos</u> <input type="checkbox"/> Enzimas <input type="checkbox"/> Otros químicos: _____ 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Agentes biológicos/ peligros/estresores <input type="checkbox"/> VIH <input type="checkbox"/> Hepatitis B o Hepatitis C <input type="checkbox"/> Otras enfermedades de transmisión sexual <input type="checkbox"/> Tuberculosis <input type="checkbox"/> Bacteria usada en la industria <input type="checkbox"/> Organismos en laboratorios <input type="checkbox"/> Otras bacterias y virus <input type="checkbox"/> Hongos (incluidos mohos) <input type="checkbox"/> Plantas <input type="checkbox"/> Mordeduras o piquetes de animales <input type="checkbox"/> Enfermedades transmisibles por animales <input type="checkbox"/> Otros agentes/peligros biológicos: _____ 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Agentes físicos/ peligros/estresores <input type="checkbox"/> Calor excesivo <input type="checkbox"/> Frio excesivo <input type="checkbox"/> Humedad excesiva <input type="checkbox"/> Sequedad excesiva <input type="checkbox"/> Vibración excesiva <input type="checkbox"/> Ruido excesivo <input type="checkbox"/> Electricidad <input type="checkbox"/> Maquinaria <input type="checkbox"/> Radiación medica (rayos X o escaneos TC) <input type="checkbox"/> Otra radiación ionizante <input type="checkbox"/> Radiación no ionizante <input type="checkbox"/> <u>Nanomateriales</u> <input type="checkbox"/> Cambio de turnos <input type="checkbox"/> Otros agentes físicos/peligros: _____

III.- Exposición recreativa y a fármacos

No Si

1.- ¿Esta usted en tratamiento farmacológico por alguna condición?

a.- Si es afirmativa la respuesta, escribir los medicamentos con fecha de inicio y

termino: _____

2.- ¿Usted ingiere algún suplemento alimenticio?

a.- Si es afirmativa la respuesta, escribir los suplementos con fecha de inicio y

termino: _____

3.- ¿Usted ocupa alguna medicina tradicional, herbolaria o alternativa?

a.- Si es afirmativa la respuesta, escribir los medicamentos con fecha de inicio y

termino: _____

A.- Hábito tabáquico:

No Si

1.-¿Usted fuma o ha fumado?:

Describa su hábito en la siguiente tabla (los cuadros en blanco marcar con una "X" la

opción que corresponda a su caso:

Periodo	Producto	Frecuencia de consumo	Cuantifique su consumo diario de acuerdo con el producto utilizado
Fecha de inicio: _____	Cigarrillo: <input type="checkbox"/>	Ocasional: <input type="checkbox"/>	_____
Fecha de termino: _____	Pipa llena de tabaco: <input type="checkbox"/>	Frecuente: <input type="checkbox"/>	
	Puro: <input type="checkbox"/>	Diario: <input type="checkbox"/>	
	Tabaco masticado: <input type="checkbox"/>		
Periodo	Producto	Frecuencia de consumo	Cuantifique su consumo diario de acuerdo con el producto utilizado
Fecha de inicio: _____	Cigarrillo: <input type="checkbox"/>	Ocasional: <input type="checkbox"/>	_____
Fecha de termino: _____	Pipa llena de tabaco: <input type="checkbox"/>	Frecuente: <input type="checkbox"/>	
	Puro: <input type="checkbox"/>	Diario: <input type="checkbox"/>	
	Tabaco masticado: <input type="checkbox"/>		
Periodo	Producto	Frecuencia de consumo	Cuantifique su consumo diario de acuerdo con el producto utilizado
Fecha de inicio: _____	Cigarrillo: <input type="checkbox"/>	Ocasional: <input type="checkbox"/>	_____
Fecha de termino: _____	Pipa llena de tabaco: <input type="checkbox"/>	Frecuente: <input type="checkbox"/>	
	Puro: <input type="checkbox"/>	Diario: <input type="checkbox"/>	
	Tabaco masticado: <input type="checkbox"/>		

Anexo 1. Cuestionario de exposición del proyecto de investigación "Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas inducidas en el Laboratorio de Citogenética" Versión 1, Octubre 2019.

4

B.- Hábito de ingesta de alcohol:

No Si

1.- ¿Usted bebe o ha ingerido bebidas alcohólicas?:

Describa su hábito en la siguiente tabla (los cuadros en blanco marcar con una "X" la opción que corresponda a su caso:

Producto	Periodo	Frecuencia de consumo	Cuantifique su consumo diario de acuerdo con el producto utilizado
Cerveza	Fecha de inicio: _____	Ocasional: <input type="checkbox"/>	_____
	Fecha de termino: _____	Frecuente: <input type="checkbox"/> Diario: <input type="checkbox"/>	
Vino	Fecha de inicio: _____	Ocasional: <input type="checkbox"/>	_____
	Fecha de termino: _____	Frecuente: <input type="checkbox"/> Diario: <input type="checkbox"/>	
Licores	Fecha de inicio: _____	Ocasional: <input type="checkbox"/>	_____
	Fecha de termino: _____	Frecuente: <input type="checkbox"/> Diario: <input type="checkbox"/>	

Por cada uno de los componentes seleccionados en la lista de la página 3, favor de ampliar las características de la exposición a cada componente seleccionado.

- | | |
|--|--|
| <p>1. Nombre del componente: _____</p> <p>2. Nombre específico (nombre del químico, etc.): _____</p> <p>3. Lugar donde se estuvo expuesto:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Trabajo<input type="radio"/> Casa<input type="radio"/> Otro lugar (especificar): ___ <p>4. Forma del agente:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Solido<input type="radio"/> Liquido<input type="radio"/> Gas<input type="radio"/> Aerosol (polvo, humo, vapor) <p>5. Como fue la exposición:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Inhalado (respirado)<input type="radio"/> En contacto con la ropa o la piel<input type="radio"/> Ingerido (comido o bebido)<input type="radio"/> Otra <p>6. Fechas de exposición:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Fecha de inicio: _____b. Fecha de termino: _____ <p>7. Cuántas horas al día estuvo expuesto: ___</p> <p>8. ¿Como clasificaría su exposición?</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Leve<input type="radio"/> Moderado<input type="radio"/> Severo <p>9. Usó algún equipo de protección</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Ventilación general<input type="radio"/> Tubo de escape de ventilación local<input type="radio"/> Respirador<input type="radio"/> Guantes<input type="radio"/> Otro (especificar): _____ | <p>1. Nombre del componente: _____</p> <p>2. Nombre específico (nombre del químico, etc.): _____</p> <p>3. Lugar donde se estuvo expuesto:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Trabajo<input type="radio"/> Casa<input type="radio"/> Otro lugar (especificar): ___ <p>4. Forma del agente:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Solido<input type="radio"/> Liquido<input type="radio"/> Gas<input type="radio"/> Aerosol (polvo, humo, vapor) <p>5. Como fue la exposición:</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Inhalado (respirado)<input type="radio"/> En contacto con la ropa o la piel<input type="radio"/> Ingerido (comido o bebido)<input type="radio"/> Otra <p>6. Fechas de exposición:</p> <ul style="list-style-type: none">c. Fecha de inicio: _____d. Fecha de termino: _____ <p>7. Cuántas horas al día estuvo expuesto: ___</p> <p>8. ¿Como clasificaría su exposición?</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Leve<input type="radio"/> Moderado<input type="radio"/> Severo <p>9. Usó algún equipo de protección</p> <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Ventilación general<input type="radio"/> Tubo de escape de ventilación local<input type="radio"/> Respirador<input type="radio"/> Guantes<input type="radio"/> Otro (especificar): _____ |
|--|--|

Anexo 1. Cuestionario de exposición del proyecto de investigación "Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas inducidas en el Laboratorio de Citogenética". Versión 1. Octubre 2019.

6

Formatos de consentimiento informado

AVISO DE PRIVACIDAD

La Dra. Benilde García de Teresa con Cédula Profesional 7237625, legalmente acreditada para brindar servicios de salud y como trabajador adscrito al Instituto Nacional de Pediatría con domicilio en Av. Insurgentes Sur 3700C, Colonia Cuicuilco Universidad, CP 04530, Delegación Coyoacán, CDMX, es la responsable de recabar sus datos personales, el uso que se les dé a los mismos y de su protección. Al respecto se le informa lo siguiente:

¿Para qué fines utilizaremos sus datos personales?

Los datos personales que recabemos de usted, serán utilizados con fines que deriven exclusivamente del proyecto de investigación titulado “Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas en el laboratorio de Citogenética”, en el que usted voluntariamente aceptó participar. Para los fines antes mencionados recabaremos sus datos personales por medio de un cuestionario de exposición que usted llenará directamente.

¿Qué datos personales recabamos y utilizamos sobre usted?

Para llevar a cabo las finalidades descritas en el presente aviso de privacidad, utilizaremos datos personales de identificación, contacto y laborales.

¿Qué datos personales sensibles utilizaremos?

Además de los datos personales mencionados anteriormente, para las finalidades informadas en el presente aviso de privacidad utilizaremos los datos personales comprendidos en el *cuestionario de exposición* que son considerados como sensibles y que requieren de especial protección como: exposición a metales, polvo o fibras, compuestos químicos, gases, radiación, agentes biológicos, ruido excesivo, calor o frío extremo, hábitos de consumo de alcohol y tabaco, enfermedades que padece, alergias y medicamentos que toma. Nos comprometemos a que los mismos serán tratados bajo las más estrictas medidas de seguridad que garanticen su confidencialidad.

¿Con quien compartimos su información y para qué fines?

Los datos personales recolectados serán utilizados para generar conocimiento científico que podrá ser presentado en reuniones nacionales e internacionales y en artículos científicos que pueden ser publicados en físico y/o en línea por lo que esta información podría ser consultada por la comunidad científica interesada. Nos comprometemos a que esta información siempre se utilizará manteniendo la confidencialidad de los sujetos y que nunca se relacionarán los datos presentados con la identidad del propietario de los datos.

¿Como puede acceder, rectificar o cancelar sus datos personales, u oponerse a su uso?

Usted tiene derecho a conocer qué datos personales tenemos de usted, para qué los utilizamos y las condiciones del uso que les damos (Acceso). Asimismo, es su derecho solicitar la corrección de su información personal en caso de que esté desactualizada, sea inexacta o incompleta (Rectificación); que la eliminemos de nuestros registros o bases de datos cuando considere que la misma no está siendo utilizada conforme a los principios,

Protocolo de Investigación: Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas en el Laboratorio de Citogenética. Versión 1, Agosto 2019

deberes y obligaciones previstas en la normativa (Cancelación); así como oponerse al uso de sus datos personales para fines específicos (Oposición). Estos derechos se conocen como derechos ARCO.

Podrá cancelarlos cuando:

- Considere que no se requieren para alguna de las finalidades señaladas en el presente aviso de privacidad.
- A su juicio, estén siendo utilizados para finalidades no consentidas.
- Decida finalizar su participación en el proyecto.
- O bien, oponerse al tratamiento de los mismos para fines específicos.

En caso de cancelarlos usted deberá de manifestarlo por escrito y especificar el fin que desea para sus datos. Sin embargo, es importante que tenga en cuenta que no en todos los casos podremos atender su solicitud o concluir el uso de forma inmediata. En particular cuando los datos hayan sido presentados o publicados previo a la revocación del consentimiento para el uso de los datos.

Esta carta deberá de ser entregada personalmente al Dra. Benilde García de Teresa del Laboratorio de Citogenética, del Instituto Nacional de Pediatría, ubicada en el 6to piso de la Torre de Investigación.

¿Cómo puede revocar su consentimiento para el uso de sus datos personales?

Usted puede revocar el consentimiento que, en su caso, nos haya otorgado para el tratamiento de sus datos personales. Sin embargo, es importante que tenga en cuenta que no en todos los casos podremos atender su solicitud o concluir el uso de forma inmediata. En particular cuando los datos hayan sido presentados o publicados previo a la revocación del consentimiento para el uso de los datos.

Para revocar su consentimiento deberá presentar su solicitud en [Describir los medios].

El procedimiento y requisitos para la revocación del consentimiento es el siguiente: manifestar por escrito y especificar que desea revocar el consentimiento para el uso de sus datos personales. Esta carta deberá de ser entregada personalmente al Dra. Benilde García de Teresa del Laboratorio de Citogenética, del Instituto Nacional de Pediatría, ubicada en el 6to piso de la Torre de Investigación.

¿Cómo puede conocer los cambios a este aviso de privacidad?

El presente aviso de privacidad puede sufrir modificaciones, cambios o actualizaciones derivadas de nuevos requerimientos legales; de nuestras propias necesidades por los productos o servicios que ofrecemos; de nuestras prácticas de privacidad; o por otras causas. Nos comprometemos a mantenerlo informado sobre los cambios que pueda sufrir el presente aviso de privacidad, a través del correo electrónico que usted nos proporcione. El procedimiento a través del cual se llevarán a cabo las notificaciones sobre cambios o actualizaciones al presente aviso de privacidad es el siguiente: Se enviará un correo electrónico a la dirección provista.

Si usted considera que su derecho de protección de datos ha sido lesionado por alguna conducta de nuestro personal o nuestras actuaciones o respuestas, presume que en el tratamiento de sus datos personales existe alguna violación a las disposiciones previstas en

Protocolo de Investigación: Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas en el Laboratorio de Citogenética. Versión 1, Agosto 2019

la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, podrá interponer queja o denuncia correspondiente ante el IFAI, para mayor información visite www.ifai.org.mx

De conformidad con lo que establece el artículo 9 de la Ley en cita, requerimos de su consentimiento expreso para el tratamiento de sus datos personales sensibles, por lo que solicitamos que indique si acepta o no el tratamiento de los datos.

Consiento que mis datos personales sensibles sean tratados conforme a los términos y condiciones del presente aviso de privacidad.

Nombre: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Protocolo de Investigación: Análisis histórico de la frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas en el Laboratorio de Citogenética. Versión 1, Agosto 2019

