

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD**



**“ESTUDIO DE BIOMARCADORES EN CÉLULAS DE EPITELIO
BUCAL EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO”**

T E S I S

que presenta para obtener el título de LICENCIADO EN ENFERMERÍA

JESUS ISRAEL AGUNDEZ PARAMO

**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. Yanis Toledano Magaña**

ENSENADA, B. C.

MARZO DE 2023

Universidad Autónoma de Baja California

ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESTUDIO DE BIOMARCADORES EN CÉLULAS DE EPITELIO BUCAL EN
PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO**

**TESIS PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER
EL TÍTULO DE**

LICENCIADO EN ENFERMERÍA

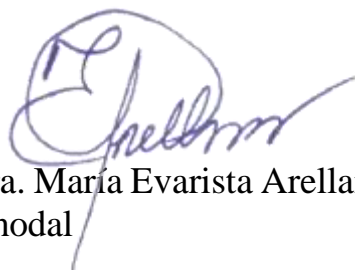
PRESENTA:

JESÚS ISRAEL AGUNDEZ PÁRAMO

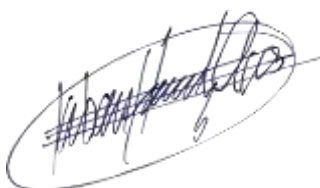
APROBADA POR:



Dra. Yanis Toledano Magaña
Directora



Dra. María Evarista Arellano García
Sinodal



M. en C. Esteban Hernández Armas
Co-Director



Dr. Juan Carlos García Ramos
Sinodal



Dr. Francisco Casillas Figueroa
Sinodal

RESUMEN

De la tesis de Jesús Israel Agundez Páramo, presentada como requisito para la obtención del título de Licenciado en Enfermería.

Ensenada, Baja California, 25 de enero del 2023.

ESTUDIO DE BIOMARCADORES EN CÉLULAS DE EPITELIO BUCAL EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO

Resumen aprobado por:

Dr. Yanis Toledano Magaña
Directora

En las últimas dos década el aumento en la incidencia y prevalencia de la diabetes mellitus ha provocado que se le considere una epidemia según la Organización Mundial de la Salud. Es importante señalar que el síndrome metabólico es un conjunto de variaciones físicas, químicas, clínicas y fisiológicas, con amplias variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena, determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales lo que puede conducir al desarrollo de la diabetes mellitus.

Además, se ha reportado que existe una correlación entre la diabetes y la obesidad con un alto nivel de daño oxidativo en el ADN, lo que puede conducir a inestabilidad genómica. Es por esto por lo que en este estudio evaluó el daño cito y genotóxico en células de epitelio bucal de pacientes sanos (N=19) y con síndrome metabólico (N=8). Se determinó que existe un incremento en el biomarcador de células en cariorexis en los sujetos con síndrome metabólico en comparación con los sujetos sanos, así como un aumento en el número de gemas lo que representa un mayor daño genotóxico. También, se pudo observar que existe una correlación positiva entre los biomarcadores asociados con genotoxicidad y variables como la edad, peso, índice de masa corporal, horas de sueño y consumo de suplementos alimenticios. Sin embargo, es necesario aumentar el tamaño de muestra y establecer un sistema de encuesta que permita una interpretación directa para una determinación más específica de la asociación entre el síndrome metabólico y la inestabilidad genómica.

Palabras clave: Genotoxicidad, citotoxicidad, epitelio bucal, síndrome metabólico, estilo de vida.

DEDICATORIA

A mis abuelos José Gabriel Paramo Ortega y María del Socorro Garces Ponce, socorrito para los compas, que más que ser una madre, fue y sigue siendo un pilar en mi formación, apoyándome a madurar y a crecer, por enseñarme a ser un faro de luz para las personas sin importar que tan efímeras pueden llegar a ser en mi camino. Así como por enseñarme a sonreír y disfrutar las cosas que la vida me otorgue, por enseñarme a llorar y darle lugar a las emociones que no siempre son las más amigables, y más que nada por enseñarme a vivir a pesar de lo difícil y complicado que puede llegar a ser este camino.

A mis padres Miriam Aremiz Paramo Garces y Cesar Israel Agundez Zamora, quienes más que darme la vida, son quienes muy a su manera me dan todo su cariño incondicional y continúan enseñando la importancia de aprender de los errores y a tenernos paciencia ante los resultados de los mismos.

A mis hermanos, José Israel, Cesar Israel y Danafer Mayrim que más que ser mis compañeros en la mayoría de mi vida, son mi motivo a seguir y por el cual no me permito declinar en mis objetivos, por su apoyo y ser mis confidentes en la vida.

A mi mejor amiga y persona favorita Paulina Gallo Aguirre, por estar a mi lado en la mayoría de los momentos difíciles de mi vida universitaria, así como por apoyarme a pesar de las dificultades, por demostrarme cómo superarlas y ser quien me hacía las cosas más amenas en mis propias adversidades. Por permitirme amar y aprender a ser amado, así como por enseñarme

a hacer las cosas por los motivos correctos. Por entender mis modos raros de pensar y también por ser mis secuaz casando el ofertón en los globitos.

A mis hermanos de vida Alex Parra, Ricardo Placencia, Alexis Valdez y Andrés Prado que son de las cosas más bonitas y extrañas que esta vida me pudo dar, otorgándole su amor, apoyo, cariño y experiencia en todo lo que hago, no bastándoles con ser una de las partes más importantes de mi vida son mis motores.

A mis comís Christopher Ramírez y Yozadara Cota que fueron y son por mucho las personas más nobles, amables y cariñosas que conozco, el cariño que les tengo solo es proporcional a lo mucho que ellos están dispuestos a hacer por los demás, sin esperar nada a cambio.

Y a todos quienes de alguna forma contribuyeron a mi formación profesional y personal.

AGRADECIMIENTOS

Un profundo agradecimiento a todas las autoridades de la escuela de ciencias de la salud UABC, por enseñarme a través de estos años el valor e importancia de la formación de profesionales de la salud.

A la facultad de deportes UABC por confiar en mí y permitirme desempeñar mi trabajo de investigación dentro de su programa educativo.

Me gustaría otorgar mi gratitud y respeto a mis tutores la Dra. Yanis Toledano Magaña y al Dr. Juan Carlos García Ramos, por todos los conocimientos brindados, así como por la paciencia y sabiduría mostrada en el camino, por enseñarme un nuevo sendero profesional, así como por adoptarme en su familia de pequeños y grandes científicos, espero encontrar la forma de devolverles un poco de lo mucho que me han dado.

Así mismo me permito destacar mi admiración por la Dra. María Evarista Arellano García por no solo brindarme el conocimiento técnico para realizar esta investigación, sino por confiarme su valiosa línea de investigación.

A todo el equipo que conforma a la familia de los Laboratorios de Nanomedicina y Nanotoxicología así como al Laboratorio de Química Medicinal, en especial a M.C. Alberto Blanco Salazar y M.C. Jesús Gabriel González Vega, que fuera de ser maestros, los puedo considerar grandes amigos y mentores.

Por otra parte, a mi compañero y colega L.E. Carlos Ramon Cárdenas Valencia, que fuera de ser un amigo de carrera, fue una mancuerna y pareja en esta transición de aprendizaje en lo que sería nuestra incursión en la investigación, por seguirme en mis locuras y no claudicar cuando el camino no estaba tan claro.

A las personitas Karen y Lesly Jaramillo por ser mis amigas en esta transición emocional y espiritual, por apreciarme y demostrarme su cariño a pesar de ser cáncer, por estar ahí para mí y por ser mis concejeras, psicólogas y hermanas, de no ser por ustedes no se si hubiera logrado seguir adelante, por eso y más les agradezco.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. GLOSARIO	11
1.1 Abreviaturas	11
1.2 Definiciones	12
2. INTRODUCCIÓN	14
2.1 ALTERACIONES METABÓLICAS Y ENFERMEDADES ASOCIADAS	15
2.1.1 Síndrome Metabólico	15
2.1.2 Enfermedades cardiovasculares	16
2.1.3 Estadísticas de diabetes	17
2.1.4 Criterios diagnósticos	17
2.1.5 Posibles consecuencias a nivel genético del síndrome metabólico	18
- Relación entre el daño genético y el envejecimiento	18
- Relación entre el daño genético y el estrés oxidativo	19
2.2 PROCESO DE REPLICACION CELULAR	20
2.2.1 Mitosis	20
2.2.2 Errores y sus consecuencias en la replicación del ADN	21
2.3 GENOTOXICIDAD	23
2.3.1 Factores asociados con el daño genotóxico	23
2.4 MODELOS MÁS COMÚNMENTE UTILIZADOS PARA EVALUAR CITO Y GENOTOXICIDAD	28
2.4.1 Enfermedades que han sido asociadas con la genotoxicidad	30
3. MARCO TEÓRICO	32
4. JUSTIFICACIÓN	36
5. HIPÓTESIS	38
6. OBJETIVOS	39
6.1 Objetivo general	39
6.2 Objetivos específicos	39
7. METODOLOGÍA	41
7.1 Selección de la muestra	41
7.2 Toma de muestra de epitelio bucal	41
7.3 Etiquetado de laminilla	42
7.4 Fijado de muestra	42
7.5 Preparación de colorantes	43
7.5.1 Tinción de las muestras	43
7.6 Lectura de laminillas	44
7.7 Aplicación de encuestas y BQ.	46
8. ANÁLISIS DE DATOS	53
9. RESULTADOS	55
9.1 Pruebas de distribución	62

9.2 Biomarcadores de citotoxicidad	63
9.2.1 Pruebas distribución de los datos	63
9.2.2 Variabilidad de conteos celulares de individuos sanos en comparación con individuos con síndrome metabólico por biomarcador de citotoxicidad	65
9.3 Biomarcadores de Genotoxicidad	69
9.3.2 Variabilidad de conteos celulares de individuos sanos en comparación con individuos con síndrome metabólico por biomarcador de genotoxicidad	70
9.4 Análisis de correlación	73
10. DISCUSIÓN	78
11. CONCLUSIONES	82
12. BIBLIOGRAFIA	83

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura.	Nombre.	Pág.
Figura 1.	Representación esquemática de una sección transversal de la mucosa bucal normal.	35
Figura 2.	Estadios de células de epitelio bucal.	46
Figura 3.	Formato de conteo para muestra de células de epitelio bucal.	47
Figura 4.	Citotoxicidad en sujetos sanos.	57
Figura 5.	Genotoxicidad en sujetos sanos.	58
Figura 6.	Citotoxicidad en sujetos con síndrome metabólico	59
Figura 7.	Genotoxicidad en sujetos con síndrome metabólico	60
Figura 8.	Citotoxicidad de sujetos sanos y con síndrome metabólico.	62
Figura 9.	Genotoxicidad de sujetos sanos y con síndrome metabólico.	63
Figura 10.	Grafica de distribución y dispersión de células cariolíticas en muestras de epitelio bucal.	66
Figura 11.	Gráfica de distribución y dispersión de células cariorexis en muestras de epitelio bucal.	67
Figura 12.	Gráfica de distribución y dispersión de células picnosis en muestras de epitelio bucal.	68
Figura 13.	Grafica de distribución y dispersión de células con cromatina condensada en muestras de epitelio bucal.	69
Figura 14.	Grafica de distribución y dispersión de células con buds en muestras de epitelio bucal.	71
Figura 15.	Grafica de distribución y dispersión de células con micronúcleos en muestras de epitelio bucal.	72
Figura 16.	Gráfica de distribución y dispersión de células binucleadas en muestras de epitelio bucal.	73
Figura 17.	Matriz de correlación de individuos con síndrome metabólico.	74
Figura 18.	Matriz de correlación de individuos del grupo control.	76
Figura 19.	Matriz de correlación de individuos con síndrome metabólico en comparación con individuos del grupo control.	77

ÍNDICE DE TABLAS.

Numero.	Nombre.	Pág.
Tabla 1.	Estadística descriptiva de los biomarcadores determinados en muestras de epitelio bucal.	61
Tabla 2.	Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) aplicada en biomarcadores de citotoxicidad.	64
Tabla 3.	Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas aplicada en biomarcadores de citotoxicidad.	65
Tabla 4.	Prueba U de Mann-Whitney para Muestras Independientes aplicada en biomarcadores de citotoxicidad.	65
Tabla 5.	Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) aplicada en biomarcadores de genotoxicidad.	70
Tabla 6.	Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas aplicada en biomarcadores de genotoxicidad.	70
Tabla 7.	Prueba U de Mann-Whitney para Muestras Independientes aplicada en biomarcadores de genotoxicidad.	70

1. GLOSARIO

1.1 Abreviaturas

- **MO:** mucosa oral
- **ADN:** ácido desoxirribonucleico
- **CEP:** Células de epitelio bucal
- **CD:** Células diferenciadas
- **CB:** Células no diferenciadas
- **CC:** Células en cariólisis
- **CCC:** Células con cromatina condensada
- **CCX:** Células en cariorrexis
- **CP:** Células en picnosis
- **BN:** Células binucleadas
- **NBUD:** Células con brotes nucleares
- **MNi:** Células con micronúcleos
- **SM:** Síndrome metabólico
- **EROs:** Especies reactivas de oxígeno
- **MDA:** malondialdehído
- **4-HNA:** 4 hidroxil-nonenal
- **OC:** organoclorados
- **IMC:** Índice de masa corporal
- **HDL:** Lipoproteínas de alta densidad
- **LDL:** Lipoproteínas de baja densidad
- **HTA:** Hipertensión arterial
- **IAM:** Infarto agudo al miocardio
- **EVC:** Evento cerebro vascular
- **DM:** Diabetes mellitus
- **OMS:** Organización mundial de la salud
- **DL50:** Dosis letal media
- **CL50:** Concentración letal media

1.2 Definiciones

- **CROMOSOMA**

Orgánulo en forma de filamento que se halla en el interior del núcleo de una célula eucariota y que contiene el material genético (Nussbaum, 2016).

- **NÚCLEO**

El núcleo, en lo que se refiere a la genómica, es el orgánulo rodeado por membrana en el interior de la célula, que contiene los cromosomas. Una matriz de orificios o poros en la membrana nuclear permite el pasaje selectivo de determinadas moléculas (como las proteínas y los ácidos nucleicos) hacia el interior o el exterior del núcleo (Karp, 2014).

- **GENOTÓXICO**

Se refiere a aquellos agentes que tienen afinidad para interactuar con el ADN, produciendo alteraciones estructurales o funcionales tanto en células germinales como somáticas (Herrera, 2007).

- **GENOTOXICIDAD**

Capacidad de una sustancia de dañar directa o indirectamente al ADN y cromosomas de las células (Nussbaum, 2016).

- **OBESIDAD ABDOMINAL**

Circunferencia de la cintura > 102 cm, (40 in) en hombres y > 88 cm (35 in) en mujeres, obesidad central (relación cintura-cadera > 0,90 para hombres y > 0,85 para mujeres) y o índice de masa corporal (IMC) > 30 kg/ m² (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

- **TRIGLICERIDOS ALTOS**

= 150 mg/dL o = 1,7 mmol/L (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

- **COLESTEROL cHDL BAJO**

< 40 mg/dL o < 1,03 mmol/L en hombres y < 50 mg/dL o < 1,4 mmol/L en mujeres (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

- **HIPERTENSION ARTERIAL**

=130/=85 mmHg (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

- **HIPERGLICEMIA EN AYUNAS**

=110mg/dL o 6,1 mmol/L (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

- **ORCEINA**

Tinte positivo (+) que interacciona con lo negativo tiñe secuencia de material genético en el núcleo, su fórmula química es $C_{28}H_{24}N_2O_7$ (Armiñana, 2006).

- **VERDE RÁPIDO**

Tinte negativo (-) que interacciona con lo positivo (+), tiñe microtúbulos del citoplasma, su fórmula química es $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$ (REAGENTS S.A., 2016).

- **ETANOL AL 30%**

Fórmula química $C_2H_6O_2$ con CAS N°: 64175 y un peso molecular es de 46.1. Fijan por deshidratación y coagulación de las proteínas, sobre todo las citosólicas. Extraen los lípidos de los tejidos, pero no afectan a los carbohidratos. Se usan frecuentemente para fijar las extensiones citológicas o secciones de criostato obtenidas de tejido no fijado (Megías M, 2018).

2. INTRODUCCIÓN

Una de las principales directrices de la genética es entender y evaluar los cambios estructurales de los cromosomas de las células eucariotas, dando lugar a la genotoxicidad, como una de las ramas de estudio encargadas de entender a toda sustancia que cuenta con las propiedades para dañar directa o indirectamente al ADN y a los cromosomas de las células. Estableciendo esta relación entre disciplinas, es cuando el estudio de la fisiopatología toma un papel fundamental ya que, cambios físicos, químicos y fisiológicos en aparatos, sistemas y órganos, son el inicio de la mayoría de las enfermedades, teniendo en gran medida un cambio en la funcionalidad celular (Thomas et al., 2009).

Estas entidades genéticas presentan variabilidad clínica o fenotípica, y pueden manifestarse como hipotonía, retraso del desarrollo psicomotor, discapacidad intelectual, epilepsia, neuroregresión, anomalías congénitas, talla corta, microcefalia, inmunodeficiencias primarias, esquizofrenia, trastornos del espectro autista, trastornos de conducta, atención e hiperactividad, demencia, movimientos anormales, cáncer; incluso, hay entidades como la parálisis cerebral infantil, en las que anteriormente no se describe un componente genético y ahora se considera que hasta un 20% de los casos tiene una causa genética (Hugo H. Abarca Barriga, 2018).

Además, la exposición prolongada a sustancias mutagénicas es una de las principales causas de la genotoxicidad, desde la combustión hasta la exposición a plaguicidas contribuyen con la intoxicación de los tejidos celulares de las poblaciones afectadas. Hablando desde ambientes ocupacionales, hasta exposiciones pasivas, constituyen un riesgo potencial para el ser humano y el ambiente, lo que se traduce en un impacto para la salud pública (Aiassa, 2012).

Por otro lado, el síndrome metabólico (SM) es un conjunto de variaciones físicas, químicas, clínicas y fisiológicas, con amplias variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena, determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales. Fue reconocido hace poco menos de 100 años en los libros de medicina y ha recibido diversas denominaciones a través del tiempo. Por otra parte, la mayoría de los autores reconocen que no se trata de una única enfermedad sino de una agrupación de problemas de salud que pueden surgir de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo, causados por la combinación de factores genéticos y ambientales asociados al estilo de vida (Dra. Mariela Edith López, 2007).

Los factores para que a un individuo se le considere con potencial riesgo de padecer síndrome metabólico se relacionan con la detección de enfermedades y padecimientos relacionados con el incremento significativo o descontrol de; índice de masa corporal (IMC) fuera de intervalos normales, dislipidemias (colesterol, HDL, LDL o triglicéridos fuera de intervalos normales), problemas cardiovasculares (HTA, IAM, EVC, etc), variaciones con los controles glucémicos séricos (diabetes mellitus tipo 1, tipo 2 o resistencia a la insulina) (Dra. Mariela Edith López, 2007).

2.1 ALTERACIONES METABÓLICAS Y ENFERMEDADES ASOCIADAS

2.1.1 Síndrome Metabólico

México está posicionado entre los primeros 3 lugares en cuanto a índices de prevalencia de obesidad y sobrepeso a nivel mundial, siendo fluctuante en los últimos 5 años en comparación con Estados Unidos. Considerando el índice de masa corporal, la Organización Mundial de la

Salud (OMS) determinó que en la actualidad por lo menos el 73% de las mujeres mexicanas de 15 años en adelante se encuentran en la categoría de sobrepeso debido a que cuentan con un IMC de $\geq 25\text{kg/m}^2$, de las que el 41.1% entran en la clasificación de obesidad de cualquier tipo. Mientras que los hombres, cuentan con unas cifras del 73.6% de sobrepeso y 30.1% de obesidad (Dra. Mariela Edith López, 2007).

Tomando en cuenta que las alteraciones metabólicas que derivan de la obesidad tales como, dislipidemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina e hipertensión, se han asociado con un aumento en el riesgo de muerte cardiovascular prematura, debido al impacto que tienen en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y la diabetes. Las enfermedades cardiovasculares representan la primera causa de muerte a nivel global, siendo las cardiopatías isquémicas las causas más frecuentes de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (OMS, 2020).

2.1.2 Enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de defunción en el mundo y, según estimaciones de la OMS, cobran 17.9 millones de vidas cada año. Estas enfermedades constituyen un grupo de trastornos del corazón y los vasos sanguíneos que incluyen cardiopatías coronarias, enfermedades cerebrovasculares y cardiopatías reumáticas. Más de tres de cada cinco defunciones por enfermedades cardiovasculares se deben a cardiopatías coronarias y accidentes cerebrovasculares, y una tercera parte de esas defunciones ocurren prematuramente en personas menores de 70 años (OMS, 2019).

En México, las enfermedades no transmisibles, incluyendo enfermedades cardiovasculares, representan el 77% del total de muertes de adultos, donde los eventos cerebrovasculares representan casi una cuarta parte de estos decesos, siendo poco más del 24% del total de muertes. Tomando en cuenta que el factor de riesgo más relacionado con las enfermedades cardiovasculares o complicación de estas es la hipertensión, que puede aumentar el riesgo de ataque o insuficiencia cardíaca, enfermedad renal o derrame cerebral (INEGI, 2020).

2.1.3 Estadísticas de diabetes

Durante las últimas décadas tanto la incidencia como la prevalencia de diabetes han aumentado constantemente a nivel mundial, además se le atribuye un total estimado de 244 084 muertes (1.5 millones en todo el mundo). Se estima que 422 millones de personas padecen diabetes, siendo 62 millones de personas en América, en su mayoría de un estrato económico medio/bajo (OMS, 2019). Específicamente en México en el año 2020, 151 019 personas fallecieron a causa de complicaciones asociadas directamente a diabetes mellitus de las cuales 78 922 defunciones fueron hombres (52%) y 72 094 mujeres (48%), lo que corresponde al 14% del total de las defunciones. La tasa de mortalidad por diabetes de 2020 fue de más de 11 personas por cada 10 mil habitantes (INEGI, 2021).

2.1.4 Criterios diagnósticos

Los criterios de correlación clínica para que un individuo sea considerado con síndrome metabólico son, regulación alterada de la glucosa o diabetes y/o resistencia a la insulina, así como también contar con dos o más de los siguientes componentes; tensión arterial elevada,

triglicéridos plasmáticos elevados y/o colesterol, HDL bajo, obesidad central, índice de masa corporal mayor a 30kg/m^2 , microalbuminuria. Se han observado otros componentes que también se han relacionado con la resistencia a la insulina, aunque por el momento no se consideran esenciales para el diagnóstico, como lo son: hiperuricemia, disfunción endotelial, aumento del fibrinógeno y el Inhibidor del activador del plasminógeno tipo (1PAI-1), hiperleptinemia, enfermedad de ovarios poliquísticos, entre otros (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

2.1.5 Posibles consecuencias a nivel genético del síndrome metabólico

Entendiendo que el ciclo celular es el proceso que representa el mecanismo fundamental subyacente a la reproducción de todos los seres vivos, es pertinente decir que los procesos que interfieran directa o indirectamente con la generación de nuevas células pueden ser factores asociados con el desarrollo de enfermedades, trastornos y síndromes. El riesgo de desarrollar complicaciones en los parámetros que definen a un individuo con síndrome metabólico depende de las condiciones físicas, químicas y fisiológicas. No obstante, la exacerbación de signos y síntomas de complicaciones en el estado de salud puede dar lugar a enfermedades subyacentes a los mismos, siendo las complicaciones del sistema cardiovascular la más estudiadas por su alta tasa de mortalidad (Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M., 2002).

- Relación entre el daño genético y el envejecimiento

Tomando en cuenta que el envejecimiento se define como una disminución progresiva de la función fisiológica, secundario a esto es que somos más susceptibles a infecciones y por consecuencia a la muerte (Ippei Shimizu, 2014).

Cuando el ADN presenta daño, el ciclo celular se puede ver afectado, cuando el deterioro es irreversible se denomina senescencia celular, en donde se ven involucradas varias vías de señalización. Se sabe que en el proceso del envejecimiento la actividad transcripcional mediada por las proteínas p53 y p16 aumenta, por otra parte, este efecto es indicativo de daño en el ADN y puede causar desarrollo de fenotipos de envejecimiento temprano. Así mismo la senescencia celular proporciona un posible vínculo entre el envejecimiento y los procesos inflamatorios, a través de la regulación positiva persistente de las moléculas inflamatorias, incluidas las citocinas, esto por los cambios fenotípicos proinflamatorios de las células senescentes desencadenadas por la respuesta al daño del ADN.

No obstante, si tomamos en cuenta que el daño en el ADN causa la activación del p53, se puede producir una inhibición directa e indirecta de algunas vías metabólicas. Por ejemplo, las vías mediadas por JNK/IKK en la señalización de la insulina, así como la falla de las células B alteran la secreción de insulina, es decir, inducen la desregularización de la homeostasis de glucosa (Ippei Shimizu, 2014).

- **Relación entre el daño genético y el estrés oxidativo**

La información reportada es que existe una correlación entre diabetes, obesidad y un alto nivel de daño oxidativo en el ADN asociado con un aumento de especies reactivas de oxígeno, esto

debido a los niveles séricos de 8-hidroxi 20 desoxiguanosina, un biomarcador sensible para el daño oxidativo del ADN. Así mismo la integridad genómica se debe a las propiedades estructurales del ADN, es así como los telómeros (secuencias de ADN repetidas ubicadas en los extremos de los cromosomas) toman un rol fundamental en el mantenimiento de ésta. El acortamiento en la longitud de las secuencias de ADN genera una disfunción en el genoma por lo que se activa la respuesta al daño del ADN dependiente de p53 (Ippei Shimizu, 2014).

Entendiendo lo anterior se puede plantear una correlación entre la presencia de especies reactivas de oxígeno (estrés oxidativo) asociado a disfunciones metabólicas que se encuentran exacerbadas por fisiopatologías (diabetes, obesidad y procesos inflamatorios) que a su vez, activan a proteínas tumorales y enzimas proinflamatorias, que generan inhibición directa e indirecta del ciclo celular, generando senescencia celular lo cual da lugar a variaciones, estructurales, funciones y de mantenimiento en órganos, aparatos y sistemas (Ippei Shimizu, 2014).

2.2 PROCESO DE REPLICACION CELULAR

2.2.1 Mitosis

Es una fase del ciclo celular en donde entra en juego un elaborado aparato que asegura que cada una de las células hijas reciban un juego completo de la información genética. Esto se consigue mediante un mecanismo que distribuye una cromátide de cada cromosoma en cada célula hija. Al proceso de distribuir una copia de cada cromosoma a cada célula hija se le denomina

segregación cromosómica. El proceso de la mitosis es continuo, pero se subdivide para su estudio en cinco etapas: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase (Nussbaum, 2016).

La información genética está contenida en el ADN que es una macromolécula de ácido nucleico polimérico constituida por tres unidades: un azúcar con cinco carbonos, la desoxirribosa; una base que posee nitrógeno, y un grupo fosfato. Las bases nitrogenadas se dividen en dos tipos, las purinas y las pirimidinas, siendo adenina (A) y guanina (G) purinas y, la timina (T) y citosina (C) las pirimidinas (Nussbaum, 2016). Cuando una célula se divide, en primer lugar, debe duplicar su genoma para que cada célula hija contenga un juego completo de cromosomas. En la replicación se utilizan polimerasas, que son moléculas dedicadas específicamente a copiar material genético. Al momento de terminar con la replicación la célula tiene el doble de la cantidad de ADN que necesita, es cuando puede dividirse para depositar la mitad del material genético en cada una de las células hijas, esto hace que en la mayoría de los casos las dos células sean idénticas (Nussbaum, 2016).

2.2.2 Errores y sus consecuencias en la replicación del ADN

Durante la replicación del ADN pueden existir variaciones que se pueden interpretar conociendo las propiedades estructurales de las células mononucleadas, ya que son las que nos permitirán determinar errores o inconsistencias en este proceso. El estudio de los biomarcadores es útil como indicativo de la insuficiencia de la citocinesis y la susceptibilidad a aneuploidía, es por esto por lo que el criterio para interpretar estas anomalías es que son indicativos de inestabilidad genómica o daño al ADN. Para tener un panorama completo de los posibles errores en la replicación del ADN es necesario conocer los siguientes parámetros:

- Células Binucleadas (BN)

Son células conformadas por dos núcleos principales dentro de una sola célula, los núcleos son de tamaño e intensidad de tinción similares, así como pueden estar separados o tocarse entre sí. Se da por el fracaso de la citocinesis ya sea debido a defectos en la formación del anillo de microfilamento o a la detención del ciclo celular debido a una mala segregación de cromosomas o disfunción de los telómeros (Thomas et al., 2009).

- Células con micronúcleos (MNi)

Estas células se caracterizan por la presencia de uno o más MNi junto al núcleo principal (células mononucleadas) o núcleos (células binucleadas). Los MNi tienen forma redonda u ovalada con una intensidad de tinción igual que el núcleo principal. El diámetro del MNi oscila entre 1/3 y 1/16 con respecto al tamaño del núcleo principal (Thomas et al., 2009).

- Células con brotes nucleares (NBUD)

Son células que contienen cuerpos nucleares que cuentan con una conexión al núcleo principal por un puente nucleoplásmico que puede ser ancho o delgado. Los NBUD poseen la misma intensidad de tinción que el núcleo principal y su diámetro suele oscilar entre 1/3 y 1/16 con respecto al tamaño del núcleo principal. Su estructura sugiere un proceso de gemación involucrado en la eliminación del exceso de material nuclear, como mecanismo de reparación de ADN no resueltos o ADN amplificado, con su posterior segregación a la periferia del núcleo (Thomas et al., 2009).

2.3 GENOTOXICIDAD

La genotoxicidad se centra en las alteraciones estructurales o funcionales en el material genético, tanto en células germinales como somáticas que pueden ser provocadas por agentes que tienen afinidad para interactuar con el ADN (Herrera, 2007).

2.3.1 Factores asociados con el daño genotóxico

- Factores endógenos

Son aquellos que se generan de forma intracelular, uno de los más reportados es el estrés oxidativo. Este se refiere a un desbalance entre la generación de especies reactivas de oxígeno (EROs) y los mecanismos antioxidantes que tienen como función su eliminación. Este desbalance conduce a un aumento significativo en la concentración de EROs. De manera natural los seres vivos somos capaces de regular niveles basales de sustancias oxidantes que se producen en procesos bioquímicos y en rutas de compensación metabólica. El estrés oxidativo está determinado según dos situaciones; si existen niveles disminuidos de antioxidantes o un aumento de especies reactivas (Carlos Carvajal Carvajal, 2019).

Cuando el estrés oxidativo no se puede regular las moléculas biológicas, el ADN, las proteínas y los lípidos que conforman la membrana celular pueden resultar con un daño irreversible. Cuando hay daño oxidativo en el ADN secundario a estos desbalances es cuando se pueden presentar mutaciones genéticas, inestabilidad microsatelital e interviene en el proceso de transcripción, esto por modificaciones oxidativas en la metionina, cisteína y derivados de

hidroxilos y carbonilos de la oxidación de las cadenas periféricas de algunos aminoácidos, como lisina, histidina o prolina (Carlos Carvajal Carvajal, 2019).

En cuestión de la membrana lipídica, en particular los ácidos grasos poliinsaturados son más susceptibles a oxidarse por la presencia de radicales libres, siendo la peroxidación lipídica una de las principales causas de pérdida gradual de la fluidez de la membrana. Una vez interactuando el oxígeno molecular con este radical, se forma otro radical llamado piróxilo lipídico, este sufre rearrreglos originando endoperóxidos, que son precursores de la formación de malondialdehído (MDA) y 4 hidroxil-nonenal (4-HNA), responsables de causar daño al ADN y a las proteínas. También se producen derivados oxigenados del colesterol llamados oxiesteroles generados a partir de reacciones de estrés oxidativo. Estos compuestos han sido ligados a procesos necróticos, aterosclerosis, inflamación e inmunosupresión. Secundario a esto es cuando se hizo la correlación de daño oxidativo con la implicación en procesos patológicos tales como: hepatitis crónica, hipertensión, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2, enfermedades neurodegenerativas y en la progresión del envejecimiento temprano (Carlos Carvajal Carvajal, 2019).

- **Factores exógenos**

Son aquellos que están presentes en el ambiente y que pueden generar alteraciones a nivel celular. En los años setenta la Organización Mundial de la Salud (OMS) expuso el riesgo y deterioro de la salud relacionado con la exposición a sustancias tóxicas de composición química, siendo el factor ocupacional rural uno de los más evidentes. Debido a esto es que se dieron a la tarea de investigar que sustancias químicas eran las más aplicadas en diferentes zonas rurales, es donde lograron llegar al punto de convergencia con un grupo de sustancias denominadas

plaguicidas. Se le conoce como plaguicida a la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas. Estas incluyen los vectores de enfermedades humanas o animales, así como a las especies no deseadas de plantas y/o animales que ocasionan un daño duradero que interfiere con la producción, procesamiento y almacenamiento de alimentos. Lo que complica su transporte y comercialización, también implementados en los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, incluso utilizados como tópicos de protección para el forraje de animales (Ramírez, 2001).

Debido a su vida media, los plaguicidas se clasifican en permanentes, persistentes, moderadamente persistentes y no persistentes, así como también por su estructura química se incluyen desde los compuestos organoclorados y organofosforados hasta compuestos inorgánicos. Los más estudiados son los organoclorados (OC) ya que son los plaguicidas más ampliamente utilizados, siendo su estructura química de la familia de los hidrocarburos clorados, cuentan con una alta estabilidad física y química, haciéndolos insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos. Estas características favorecen su persistencia en el ambiente y su lenta biodegradabilidad (Ramírez, 2001).

Su biodisponibilidad en el organismo depende de su toxicocinética: absorción, distribución, metabolismo y eliminación. Estos procesos están influenciados tanto por factores externos relacionados con los patrones de exposición y con las sustancias químicas (tipo de empleo, temperatura ambiental, tipo de plaguicida, frecuencia, intensidad y duración de la exposición, etc.), como por factores inherentes al individuo (edad, sexo, dotación genética, estado de salud, estado nutricional, estilos de vida, vía principal de absorción, etc.).

Debido al riesgo que representan los plaguicidas para los agricultores y consumidores del producto final se estableció una clasificación basada según su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, definida como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un período de tiempo corto. Utilizando como unidad de medida la dosis letal media (DL50) y la concentración letal media (CL50), ambos parámetros son determinados por presentación de producto, vía de entrada o administración, temperatura, dieta, edad, sexo, etc.

En estudios previos se determinó que las dietas bajas o carentes de proteínas y los estados de deshidratación son factores que influyen en la gravedad del daño a la salud. En animales de laboratorio sometidos a dietas hipoproteicas, las DL50 de algunos plaguicidas pueden disminuir entre 4 y 2,100 veces, situación que podría ser extrapolable al ser humano. A este respecto, una gran proporción de la población laboral y general expuesta vive en países subdesarrollados o en vías de desarrollo, donde el uso de plaguicidas es tan común como las carencias nutricionales mencionadas (Ramírez, 2001).

El reporte de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural en colaboración con el Despacho de la Secretaría de Agricultura en el Estado se presentó el informe que reporta que en la zona costera de Baja California se sembraron 2,967.50 hectáreas del fruto y así como el incremento en cultivos como es la calabacita, chícharo, col de Bruselas, fresa, tomate y otros cultivos varios. Mencionando cifras de la cosecha de fresa que es de 2,522 hectáreas, las coles de Bruselas de 294 hectáreas, así como el chícharo, la calabacita y el tomate, que presentan un avance de cosecha de 21, 18 y 3 hectáreas, respectivamente, y un total de 902 hectáreas con cultivos varios,

esto en todo el Distrito de Desarrollo Rural 001, Zona Costa, que incluye los campos agrícolas de Ensenada, Tijuana, Tecate y Playas de Rosarito (Ing. Juan M. Núñez, 2020).

- Organoclorados

Se utilizan para el control y eliminación de plagas portadoras de agentes infecciosos, por destacar algunas como rickettsia, malaria y dengue, que son algunas de las principales enfermedades transmitidas por vector. No obstante, en la agricultura se utiliza como profilácticos en algunas cosechas de uvas, lechugas, jitomate, maíz y alfalfa, de manera que la manera más común de exposición es por ingesta y por contacto. Los metabolitos actúan a nivel de sistema nervioso central, causando variaciones electrofisiológicas y enzimáticas en las membranas neuronales, interviniendo principalmente en la cinética del flujo de cationes y aniones encargados de los potenciales de acción transmembrana. Debido a esto la presencia de síntomas como convulsiones, hipertrofia muscular, paros cardiorrespiratorios, entre otros, están directamente relacionada con la inervación de sistemas y aparatos causados por los organoclorados (Martínez-Valenzuela, 2007).

- Organofosforados

Actúan a nivel de sistema nervioso central, inhibiendo enzimas reguladoras de neurotransmisores, interrumpiendo los potenciales de acción en las porciones pre y post sinápticas debido a la interrupción en la fosforilación del grupo hidroxilo serina. Debido a esto se le asocia a síntomas y condiciones tales como pérdida de reflejos, mareos, vértigo, náuseas convulsiones, coma y muerte. No obstante, su mutagénesis es de suma importancia, ya que interactúa directamente sobre las bases nitrogenadas del ADN, agregando grupos alquilo como

metilo y etilo, siendo capaces de reaccionar con electrófilos, es decir generar enlaces e intercambiando electrones (Martínez-Valenzuela, 2007).

- Carbamatos

Son derivados de los ácidos N-metil o dimetil carbámico, siendo ésteres utilizados como profilácticos en la industria agrícola. Como muchos ésteres intervienen directamente con reacciones enzimáticas como la inhibición de acetilcolinesterasa. Su acción es rápida, destacando su acción de bloqueo a través de la carbamilación mediante la generación de enlaces covalentes (Martínez-Valenzuela, 2007).

- Piretroides

Son en su mayoría productos sintéticos, derivados de piretro, aplicados como insecticidas, su ingesta o contacto prolongado causa variaciones en el sistema nervioso central causando cambios en la dinámica de los canales de sodio de la membrana de la célula nerviosa, por lo que se le puede asociar con la hiperexcitación neuronal (Martínez-Valenzuela, 2007).

Las características de los plaguicidas, pero sobre todo los efectos cito y genotóxicos que pueden ocasionar han llevado a su evaluación en diferentes modelos. Estos últimos también contribuyen a la determinación del efecto de otras sustancias e incluso de enfermedades.

2.4 MODELOS MÁS COMÚNMENTE UTILIZADOS PARA EVALUAR CITO Y GENOTOXICIDAD

Para el análisis, correlación y comparación entre modelos, se debe de tener clara la directriz dispuesta a tomar por el estudio, por lo que es más que indispensable tener en cuenta si se está evaluando, midiendo o determinando algún compuesto, sustancia o enzima, determinando estudios de causa. Así como tener claro si el enfoque es de control, evolución o evidenciación de algún proceso ya determinado o conocido con anterioridad, exponiendo y tomando como punto de partida variables asociadas a los resultados esperados, sin exclusión de determinantes a evaluar en ensayos montados con anterioridad. Tomando como variables dependientes; escalabilidad del estudio, costos, impacto y bioseguridad, así como también la evaluación por parte de organismos académicos, de investigación y comités de bioética.

- **Causa**

Estudios implementados en modelos experimentales que son eventos ligados a variables que ocurren secundarias a otro evento determinada. En su mayoría se infieren, confirman o descartan eventos correlacionados ya preexistentes. Por mencionar algunos tenemos;

- Mutación reversa en *Escherichia coli*
- Mutación reversa *Salmonella typhimurium*
- Mutación génica en *Saccharomyces cerevisiae*

Donde algunas de las pruebas estándares aplicadas son;

- Ensayo de micronúcleos
- Prueba de Ames

- **Consecuencia**

Estudios implementados en modelos experimentales que son ligados a hecho o acontecimiento derivado o que resulta inevitable y forzosamente de otro, con el objetivo de valorar, observar y

describir aquellos efectos que interactúen, cambien o perjudiquen a la supervivencia o la función normal de un organismo. Por mencionar algunos tenemos; (de la Peña E, 1999)

- Ensayo de micronúcleos *in vivo*
- Ensayo citogenético *in vivo* en médula ósea de mamífero, análisis cromosómico
- Ensayo citogenético *in vitro* en mamíferos
- Estudios de mutagenicidad de células germinales *in vivo*

Donde algunas de las pruebas estándares aplicadas son;

- ensayo de micronúcleos
- ensayo del locus específico
- ensayo de translocación hereditaria
- ensayo del letal dominante

2.4.1 Enfermedades que han sido asociadas con la genotoxicidad

- Envejecimiento

El envejecimiento se presenta como una disminución progresiva de la función fisiológica, tomando en cuenta que las variaciones morfológicas y de proliferación celular son el desencadenante de vías de señalización, así como rutas metabólicas de compensación, es así cuando toma lugar el daño del ADN, puede hacer que las células entren en un estado irreversible de detención del ciclo celular conocido como senescencia celular (Ippei Shimizu, 2014).

- Resistencia a la insulina

Con presencia de variaciones metabólicas mediadas por moléculas de señalización que promueven la resistencia a la insulina a través del daño del ADN, esto debido a que se activa el

p53 que inhibe directa o indirectamente la señalización de la insulina a través de las vías mediadas por JNK/IKK, por lo que también induce la falla de las células B pancreáticas lo que altera la secreción de misma (Ippei Shimizu, 2014).

- Patologías cardiovasculares

Lesiones vasculares se desarrolla cuando la lesión miocárdica reduce la función de la bomba cardíaca, esto promueve la acumulación de daño del ADN en la grasa visceral y el tejido cardíaco que provoca inflamación del tejido adiposo, es cuando la lipólisis mediada por la activación del sistema nervioso simpático conduce a un aumento de los radicales libres, promoviendo así el daño del ADN asociado a estrés oxidativo, activando señalizaciones dependientes de p53 (Ippei Shimizu, 2014).

3. MARCO TEÓRICO

El sistema digestivo está conformado por la boca, la faringe (garganta), el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, el recto y el ano. La boca propiamente conocida como cavidad oral, incluye los labios, el paladar duro, el paladar blando, el triángulo retromolar (espacio que se encuentra por detrás de las muelas del juicio), los dos tercios delanteros de la lengua, la encía, la mucosa bucal (revestimiento interno del labio y carrillos) y el piso de la boca (área debajo de la lengua), el límite posterior son los pilares de las fauces y las amígdalas (Carrillo Navarro, 2017).

La cavidad bucal cuenta con un revestimiento de membrana a la que se le conoce como mucosa bucal, conformada por dos tipos de tejidos: el epitelial y corion. El tejido epitelial es de origen ectodérmico y es la que conforma la capa más superficial de la cavidad, mientras que el corion es una capa de tejido conjuntivo con células derivadas de la cresta neural, siendo unidas entre sí por la membrana basal. También se encuentran las papilas coriales que son unas prolongaciones que unen al tejido conjuntivo con el epitelial (Ross, 2020).

La cavidad bucal se divide en un vestíbulo (espacio entre los labios, mejillas y los dientes) y la cavidad bucal propiamente (se ubica detrás de los dientes). Sus límites son: Dientes (por enfrente) paladar duro y blando (por arriba), lengua y piso de la boca (por abajo), orofaringe o istmo de las fauces (por atrás). Además, cuenta con un revestimiento de tres tipos de mucosa. La primera es la mucosa masticadora (se encuentra en las encías y en el paladar duro). El epitelio de la mucosa bucal es de tipo plano estratificado, subclasificándose a su vez, según el grado de queratinización en: queratinizado, paraqueratinizado, o no queratinizado (Ross, 2020).

La mucosa oral se clasifica según su localización y función, en:

- Mucosa de revestimiento. Predomina en la mayoría de la cavidad en donde recibe poco impacto por el acto masticatorio, su epitelio es plano estratificado no queratinizado.
- Mucosa masticatoria. Se encuentra en las zonas donde hay más fricción y de deslizamiento (la encía, la superficie dorsal de la lengua o el paladar duro) su epitelio es plano estratificado paraqueratinizado o queratinizado y el corion puede ser más o menos fibroso.
- Mucosa especializada o sensitiva. Está presente en la superficie de la lengua, ya que están encargadas de los estímulos en las papilas linguales (Ross, 2020).

Es importante mencionar que el 90% de las células presentes en la mucosa masticadora son los queratinocitos y como esta capa es la más abundante, es importante denotar que en este tejido epitelial se distinguen cuatro capas:

- Estrato basal o germinativo. Está conformada por células cilíndricas, su núcleo es redondo u oval con un citosol altamente basófilo. Al ser células progenitoras a menudo se pueden observar figuras mitóticas, así como también melanocitos, células de Merkel y células de Langerhans, todas estas se conectan a la membrana basal por puntos de anclaje y hemidesmosomas.
- Estrato espinoso. Está conformado células más grandes, esféricas con núcleos más redondeados más pequeño y con un citosol ligeramente basófilo. También se encuentran melanocitos, células de Merkel y células de Langerhans.

- Estrato granuloso. Esta constituido por dos a tres capas con células mas grandes y aplanadas, con un núcleo pequeño de cromatina densa, esto por ser la capa donde comienza la degeneración del núcleo y del resto de los organelos celulares
- Estrato corneo. Lo conforman células aplanadas que no presentan núcleo, con un citosol altamente acidófilo, posee células queratinizadas resistentes al daño mecánico y los solventes químicos tornándose como una escapa superficial (Ross, 2020).

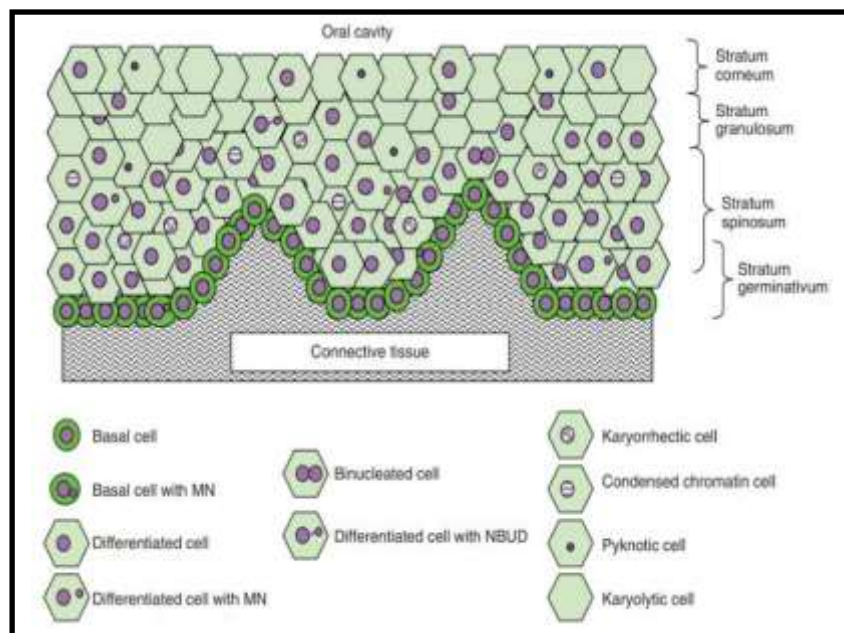


Figura 1. Representación esquemática de una sección transversal de la mucosa bucal normal. Tomado de “Thomas et al., 2009’. La mucosa de individuos sanos que ilustran las diferentes capas celulares y las posibles relaciones espaciales de los diversos se muestran los tipos de células.

Las propiedades del epitelio plano estratificado paraqueratinizado son similares a las del epitelio queratinizado en los estratos basal, espinoso y granuloso. Sus principales diferencias se encuentran a nivel de las células del estrato córneo superficial que conservan sus núcleos (se presentan picnóticos con cromatina densa) y algunos organelos celulares, esto hasta el punto de la descamación. Por otro lado, el epitelio plano estratificado no queratinizado se diferencia

principalmente por no producir la capa superficial córnea y carecer del estrato granuloso. Sus capas se componen por; la capa basal, donde las células son de características similares a las descritas anteriormente, la capa intermedia, en el cual las células son de forma poliédrica con núcleo redondo de cromatina densa y citosol poco basófilo, y su conexión entre sí es por los desmosomas, y la capa superficial, constituido por células aplanadas, nucleadas (Carrillo Navarro, 2017).

Aprovechando la propiedad descamativa de los epitelios estratificados la citología exfoliativa surge como un método de valoración para posibles diagnósticos que convergen con exacerbación de ciertas enfermedades. Asimismo, constituyen una valiosa herramienta de muestreo para el monitoreo de toxicidad ambiental, mediante la evaluación de la estabilidad citogenética (Thomas et al., 2009). Es por esto por lo que en el presente trabajo se planteó la determinación de biomarcadores en células de epitelio bucal en pacientes sanos y con síndrome metabólico.

4. JUSTIFICACIÓN

La capacidad regenerativa de los tejidos y órganos del cuerpo es fundamental para un envejecimiento saludable. La regeneración depende del número y tasa de división de las células proliferantes (basales), su estabilidad genómica y su propensión a la muerte celular. Estos eventos pueden estudiarse en la mucosa bucal (MO), que es un tejido accesible para el muestreo de células de una manera mínimamente invasiva y que no causa estrés indebido a los sujetos del estudio. Este método se utiliza cada vez más en estudios epidemiológicos moleculares para investigar el impacto de la nutrición, los factores del estilo de vida, la exposición a sustancias genotóxicas, entre otras sobre el daño del ADN y la muerte celular.

Cada vez es más evidente la necesidad de acciones e intervenciones de la salud pública con enfoque en genética, ya que en poblaciones de América Latina el tamizaje y muestreo en defectos congénitos asociados a enfermedades hereditarias y anomalías cromosómicas es cada vez más representativo. Estos defectos afectan a por lo menos el 5% de los nacidos vivos, independientemente del estado de desarrollo o del origen étnico de la población de la que son parte. Tomando en cuenta lo anterior, se estima que malformaciones congénitas ocupan entre el segundo y quinto lugar como causa de muerte en menores de 24 meses de edad, contribuyendo de un 2 a un 27% de la mortalidad infantil (Penchaszadeh, 1993).

Por otro lado, las características químicas y fisiológicas generadas por las enfermedades que en conjunto se categorizan como síndrome metabólico, intervienen directamente con diferentes rutas metabólicas, siendo así un factor de correlación con el ciclo celular o la génesis celular en órganos, aparatos y sistemas, por lo que el estudio de biomarcadores en individuos con estas

condiciones específicas tiene alta relevancia por su asociación con posibles procesos neoplásicos, así como también con factores de riesgo en potenciales procesos mutagénicos, que exacerbe enfermedades concomitantes que generen un riesgo adicional a la tasa de supervivencia aumentando las complicaciones asociadas a las mismas.

Además, el desarrollo de estudios en medicina preventiva y manejo oportuno de enfermedades relacionadas con el estilo de vida en conjunto con procesos de estudio de la estabilidad genómica, puede ser una herramienta en la sospecha y detección oportuna de procesos neoplásicos o cancerosos, esto a través del manejo de procesos mínimamente invasivos y éticamente bien regulados por comités evaluadores, bioéticos y de derechos humanos. De tal forma que la determinación de la inestabilidad genómica en células de epitelio bucal en sujetos con síndrome metabólico en comparación con sujetos sanos puede brindar información relevante la prevención y tratamiento oportuno de diversas patologías.

5. HIPÓTESIS

La inestabilidad citogenética en células de la mucosa oral es mayor en sujetos con procesos metabólicos alterados que en conjunto conforman síndrome metabólico en comparación con sujetos sin este conjunto de alteraciones.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar la inestabilidad citogenética en muestras de epitelio bucal de individuos sanos y con síndrome metabólico.

6.2 Objetivos específicos

1. Determinar un grupo control y un grupo de estudio
2. Tomar muestras de epitelio bucal de los grupos determinados
3. Fijar y teñir las muestras de epitelio bucal de sujetos sanos y con síndrome metabólico
4. Contar en un total de 1000 células de epitelio bucal, la presencia de células diferenciadas, no diferenciadas, en cariólisis y cariorexis.
5. Contar en un total de 1000 células de epitelio bucal, las células que presentan picnósis, cromatina condensada, micronúcleos, buds y dos o más núcleos.
6. Realizar encuestas que permitan describir parámetros ocupacionales y de estilo de vida de los sujetos de estudios.
7. Colectar datos de historias clínicas de los sujetos con síndrome metabólico.
8. Analizar los conteos de estadios y características de las células contadas.
9. Describir la relación entre los parámetros citogenéticos, ocupacionales y de estilo de vida de los sujetos evaluados.
10. Describir la relación entre los parámetros citogenéticos, ocupacionales, de estilo de vida, fisiológicos, bioquímicos y antropomórficos de los sujetos con síndrome metabólico.

11. Tratar de establecer una correlación entre las diferentes variables medidas y los grupos de estudio.

7. METODOLOGÍA

7.1 Selección de la muestra

- Grupo control

Se seleccionó a un grupo de personas de entre 18 y 25 años, que el médico dictaminó que cumplían con los parámetros necesarios para ser considerados como individuos sanos.

- Grupo de estudio

Se seleccionó a un grupo de personas que el médico dictaminó que cumplían con los criterios fisiológicos, químicos y somatométricos necesarios para ser considerados con síndrome metabólico.

7.2 Toma de muestra de epitelio bucal

En primera instancia se le muestra al paciente la integridad de la laminilla que se utilizará para la toma de muestra. Esta debe ser nueva, biselada y pulida para evitar cualquier tipo de lesión. La toma de muestra de epitelio bucal se realiza en la mucosa limitante del carrillo, para obtenerlas se le pidió al paciente que realizara un enjuague bucal con agua para retirar cualquier tipo de residuos de alimento o dentífrico, haciendo énfasis en la zona de los carrillos.

Posteriormente se le solicitó al paciente que girara la cabeza unos 30 grados hacia arriba, con la boca lo más abierta posible y la lengua hacia atrás o arriba del paladar. Finalmente, se realizó un trasudado en la parte interna del carrillo. Para esto se introdujo la laminilla dentro de la boca

del paciente, colocándolo del lado correspondiente a la zona media del carrillo interno, teniendo cuidado con los dientes y colocando la mano libre en la parte externa del carrillo para facilitar la toma.

Se realizó un frotis con la muestra en una laminilla previamente etiquetada con la identificación del paciente y el lado del carrillo del que se tomó. Se repite el procedimiento en el carrillo opuesto al de la muestra inicial.

7.3 Etiquetado de laminilla

Se generó una identificación única de cada paciente, esta se compone por el año de nacimiento, mes de nacimiento, primera letra del primer nombre y primera letra del primer apellido, así como las abreviaciones del lado al que correspondía Izquierda (Izq) o Derecha (Der). La etiqueta se escribió con lápiz en las dos laminillas (una para cada lado de toma de muestra) en la parte esmerilada de la laminilla.

7.4 Fijado de muestra

Se colocaron las laminillas con la muestra hacia arriba, y se dejaron secar por aproximadamente 20 min a temperatura ambiente. Una vez secas se colocaron en las cámaras de tinción, de manera que la parte posterior de la laminilla (sin muestra) se encuentre con su antagónica. Una vez colocadas, se vierte cuidadosamente etanol al 70% hasta que las laminillas se cubrieran en su totalidad se coloca la tapa y se dejan fijar por 48 horas. Finalmente, se sacan las laminillas de la

cámara y se colocan en una superficie plana sobre el lado de la laminilla que no contiene muestra, dejando secar a temperatura ambiente durante 20 min.

7.5 Preparación de colorantes

Se preparan los colorantes orceína acética y verde rápido. Se prepararon 250 ml de orceína acética llevando 150 ml de ácido acético a punto de ebullición y agregando 5 g de orceína agitando constantemente. Finalmente, se agregan 100 ml de agua estéril a temperatura ambiente, se etiquetó y se colocó en un frasco color ámbar envuelto en papel de aluminio. Así mismo, se prepararon 250.5 ml de verde rápido para lo cual se mezclan 0.5 g de verde rápido en 250 ml de agua estéril y 0.5 ml de ácido acético, mezclado constantemente a temperatura ambiente.

7.5.1 Tinción de las muestras

- Tinción con orceína acética

Se colocaron las muestras en las cámaras de tinción, de manera que la parte posterior de la laminilla (sin muestra) se encuentre con su antagónica. Posteriormente se vierte el colorante (orceína acética) previamente filtrado hasta cubrir en su totalidad las laminillas, se deja actuar por 120 min a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo, se lavan con solución salina al 0.9% para retirar el excedente de orceína, se colocan en una superficie plana sobre el lado de la laminilla que no contiene muestra, y se deja secar por 20 min.

- Tinción con verde rápido

Se colocaron las muestras en las cámaras de tinción de la misma forma que para la tinción con orceína. Se vierte el colorante hasta cubrir en su totalidad las laminillas, se deja actuar por 15 min, se lavan con solución salina al 0.9% para retirar el excedente de verde rápido y se dejan secar por 20 min.

7.6 Lectura de laminillas

Las laminillas se visualizaron en un microscopio óptico Carl Zeiss Primo Star con un aumento 40X. Se contaron 30 campos hasta alcanzar un mínimo de 1000 células contando campos completos y las dos laminillas correspondientes a cada paciente. Se anotó en una hoja de control el número total de células contadas por campo, clasificándolas en los 9 diferentes estadios celulares a estudiar, para posteriormente sumar el total de cada subdivisión y calcular el total de células por paciente. El conteo fue realizado en ciego, por dos observadores y después los datos fueron vaciados en una base de datos para su análisis.

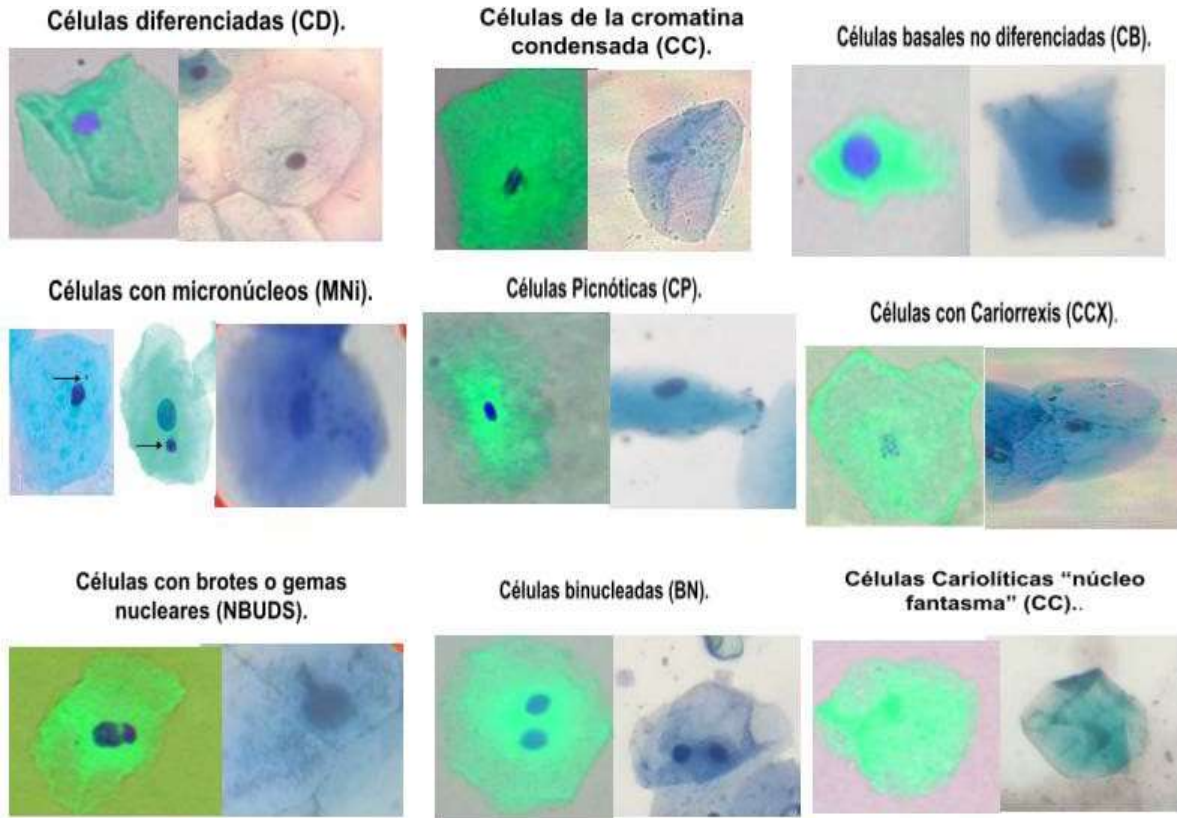


Figura 2. Estadios de células de epitelio bucal. Aspectos morfológicos de las células de tejido epitelial bucal. En la figura se muestran células de epitelio bucal en sus diferentes estadios teñidas con orceína acética y verde rápido observadas en un microscopio óptico Carl Zeiss Primo Star en un aumento de 40X.

			<ul style="list-style-type: none"> - Maestría - Doctorado
SD8	Lugar de origen	Nominal	Texto libre, {a,b,c...,z}
SD9	Estado civil	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> - Soltero - Casado - Divorciado - Unión libre
SD10	Ocupación	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> Policia -Docente -Estudiante -Otro
AM1	Estatura	Numérica discreta	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
AM2	Peso	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
AM5	IMC	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HM2	APP	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> - Anemia - Artritis - Gota - Problemas psiquiátricos - Desmayos - Enfermedad cardíaca - Fiebre reumática - Problemas digestivos - Úlcera gástrica o duodenal - Enfermedad renal - Apnea del sueño - Tuberculosis - Trastornos de la coagulación o plaquetas (sangrados) - Enfermedades de transmisión sexual <ul style="list-style-type: none"> - Asma - Cáncer - Diabetes - Crisis convulsivas - Problemas de la vsícula biliar <ul style="list-style-type: none"> - Infarto al corazón - Presión arterial alta - Colitis ulcerativa - Hepatitis - Enfermedades del hígado <ul style="list-style-type: none"> - Problemas de tiroides - Enfermedades neurológicas - Enfermedades pulmonares - Enfermedades autoinmunes
HM6	Fumador pasivo	Binomial / Booleano	{Si,No}
EV2	Sueño	Ordinal	{menos_de_4_horas, 4-5_horas, 6_horas, 7-8_horas, 9_o_mas_horas}

EV4	Ejercicio	Ordinal	{"Menos de 1 vez por semana", "1-2 veces por semana", "3-4 veces por semana", "5 o más veces por semana"}
EV5	Ejercicio tiempo	Ordinal	{Menos_de_10_minutos, 10-29_minutos, 30-49_minutos, 50_minutos_o_mas}
EV7	Comida_rápida	Ordinal	{Ninguna, Varios_días, Mas_de_la_mitad_de_los_días, Casi_todos_los_días}
EV8	Fruta_vegetales	Ordinal	{Menos_de_2_porciones, 2-3_porciones, 4-5_porciones, Mas_de_5_porciones}
EV15	Nicotina	Ordinal	{0,1,2,...,5} Donde 0 = Ninguna y 1,2,3,4,5 = x veces al día.
EV16	Alcohol	Ordinal	{0,1,2,...,5} Donde 0 = Ninguna y 1,2,3,4,5 = x veces al día.
EV18	Drogas	Ordinal	{0,1,2,...,5} Donde 0 = Ninguna y 1,2,3,4,5 = x veces al día.
EV20	Marihuana	Ordinal	{0,1,2,...,5} Donde 0 = Ninguna y 1,2,3,4,5 = x veces al día.
EV22	Consumo_Cafe	Ordinal	{No_tomo_cafe, 1-2_tazas_día, 3-4_tazas_día, >5_tazas_día}
IPAQ1	Actividad intensa	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, cantidad de días.
IPAQ2	Tiempo actividad intensa	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, minutos por día.
IPAQ3	Actividad moderada	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, cantidad de días.
IPAQ4	Tiempo actividad moderada	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, minutos por día.
IPAQ5	Caminata	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, cantidad de días.
IPAQ6	Tiempo caminata	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, minutos por día.
IPAQ7	Tiempo sentado	Numérica discreta	{0,1,2,3,...,7}, horas por día.
PARQ1	Contraindicación médica	Binomial / Booleana	{Sí,No}
PARQ2	Dolor en pecho con actividad física	Binomial / Booleana	{Sí,No}
PARQ3	Dolor en pecho sin actividad física	Binomial / Booleana	{Sí,No}
PARQ5	Problemas en huesos y articulaciones	Binomial / Booleana	{Sí,No}
SD6	Años cumplidos	Numérica discreta	Conjunto de los números naturales, N.
HM8	Suplementos alimenticios	Binomial / Booleano	{Si,No}

HM9	Alergia a meds o alimentos	Nominal	Texto libre, {a,b,c...,z}
HM10	Cirugías previas	Nominal	Texto libre, {a,b,c...,z}
HM11	Medicamentos que consume	Nominal	Texto libre, {a,b,c...,z}
SD13	Ciudad	Nominal	Texto libre, {a,b,c...,z}
SD14	Estado	Nominal	Texto libre, {a,b,c...,z}
DEP1	Talla de pie en centímetros	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP2	Peso en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP3	Circunferencia de cintura en centímetros	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP4	Circunferencia hombligo	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP5	Circunferencia cadera	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP6	Agua corporal total	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP7	Proteína	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP8	Minerales	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP9	Masa grasa corporal	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP10	Masa magra	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP11	Masa libre de grasa	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP12	Peso en kilogramos 1	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP13	Peso en kilogramos 2	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP14	MME %	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP15	Masa grasa corporal 1	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP16	Índice de Masa Corporal	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP17	Porcentaje de Grasa Corporal	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP18	Masa magra brazo derecho en kg	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.

DEP19	Masa magra brazo derecho en porcentaje	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP20	Masa magra brazo izquierdo en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP21	Masa magra brazo izquierdo en porcentaje	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP22	Masa magra tronco en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP23	Masa magra tronco en porcentaje	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP24	Masa magra pierna derecha en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP25	Masa magra pierna derecha en porcentaje	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP26	Masa magra pierna izquierda en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP27	Masa magra pierna izquierda en porcentaje	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP28	AEC/ACT	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP29	Grasa segmental brazo derecho en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP30	Grasa segmental brazo izquierdo en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP31	Grasa segmental tronco en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP32	Grasa segmental pierna derecha en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP33	Grasa segmental pierna izquierda en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP34	Agua intracelular en litros	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP35	Agua extracelular en litros	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP36	Tasa metabólica basal en Kcal	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .

DEP37	Relación cintura cadera	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP38	Masa celular corporal en kilogramos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
DEP39	Puntuación InBody		
DEP40	Área de grasa visceral	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB1	Hematocrito	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB2	Hemoglobina	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB3	Eritrocitos	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB4	CMHG -- Concentración media de hemoglobina corpuscular	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB5	VCM- Volumen Corpuscular Medio	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB6	HCM- Hemoglobina Corpuscular Media	Numérica continua	Conjunto de los números naturales y racionales expresados en decimales, $\mathbb{N} \cup \mathbb{Q}$.
HB7	Leucocitos	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB8	Plaquetas	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB9	Segmentados total	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB10	Segmentados porcentaje	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB11	Bandas total	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB12	Bandas porcentaje	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB13	Linfocitos total	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB14	Linfocitos porcentaje	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB15	Monocitos total	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB16	Monocitos porcentaje	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB17	Eosinófilos total	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .

HB18	Eosinófilos porcentaje	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB19	Basófilos total	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .
HB20	Basófilos porcentaje	Numérica discreta.	Conjunto de los números naturales, \mathbb{N} .

8. ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis de los datos se creó una base de datos utilizando el programa Excel en el cual se agrupó por categorías, haciendo diferencia entre grupo control y grupo de estudio. Cada agrupación subdividía los datos en; identificador, género, diagnóstico, número total de conteo celular (Diferenciadas, No Diferenciada, Cariólisis, Cariorrexis, Picnosis, Cromatina Condensada, Buds, Micronúcleos y Binucleadas) y conteo total acumulado de la suma de los 9 estadios celulares.

La distribución normal de los datos se determinó mediante el análisis de estadística descriptiva, donde se calculó; Frecuencia, Media, IC 95% de la media límite inferior, IC 95% de la media límite superior, Mediana, Desviación estándar, Máximo, Mínimo, 25percentil, 75percentil (tabla X). (Gregory W. Corder y Dale I. Foreman NO, 2014)

En el análisis obtenido para comprobar relaciones entre las variables independientes y las dependientes (H/M y S/SM) se ha realizado una prueba de normalidad para las variables dependientes Shapiro-Wilk, esto para determinar si la tendencia presentaba o no una curvatura normal de datos y así determinar si se contaban o no con datos paramétricos.

Dado que las variables dependientes no seguían una distribución normal, se realizaron tests estadísticos no paramétricos, por lo que se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, se considera una hipótesis nula (H_0), sin diferencia significativa ($p\text{-valor} > 0.05$) e hipótesis alternativa (H_1) o si existe alguna diferencia entre ellos ($p\text{-valor} < 0.05$) (tabla X). Así como también la prueba de Levene para homogeneidad de varianzas, donde un valor p por debajo de 0.05 sugiere una violación del supuesto de varianzas iguales (tabla X). (Gregory W. Corder y Dale I. Foreman NO, 2014)

Posteriormente se utilizaron las pruebas estadísticas de U de Mann-Whitney a las variables con resultado que rechazan la hipótesis nula por lo que no cuentan con diferencia significativa en la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($p\text{-valor}>0.05$) y la prueba de T de Student a los resultados, si existe alguna diferencia entre ellos, es decir que presentaban diferencia significativa ($p\text{-valor}<0.05$) (tabla X).

El análisis de datos se realizó utilizando el software JAMOVI versión 2.3.18 Solid para Windows. (Marta Romero Fernández, 2019)

9. RESULTADOS

En el presente trabajo se analizó la distribución de los diferentes biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad en personas identificadas como individuos sanos y pacientes que cumplen con los criterios para ser considerados clínicamente con síndrome metabólico. Para ello, se contaron bajo el microscopio óptico 1000 células de cada muestra de epitelio bucal clasificando según los biomarcadores de citotoxicidad; cariólisis, cariorrexis, picnosis y con cromatina condensada, así como también a los estadios celulares correspondientes a los biomarcadores de genotoxicidad: buds, micronúcleos y binucleadas (Figura 3). En los conteos se manejó un total mínimo acumulado entre los 9 estadios celulares de 1000 células por individuo correspondiente, esto incluyendo a los estadios celulares de células diferenciadas y no diferenciadas, además de los biomarcadores antes mencionados.

Se analizó una población de 27 individuos de los cuales 19 fueron considerados como grupo control (sanos) y 8 como grupo de estudio (diagnosticados con síndrome metabólico), obteniendo así un valor porcentual correspondiente a 70.4% de individuos sanos y 29.6% en individuos con el diagnóstico de síndrome metabólico (SM). El análisis de los datos arrojó que tienen una parametricidad no lineal, por lo que se sometieron a pruebas de validación estadística para datos no paramétricos.

Los resultados de citotoxicidad muestran un número de células cariolíticas menor a 25 para ambos géneros, 24 por cada 1000 células para hombres y 21 por cada 1000 células para mujeres. En el caso de las células picnóticas se determinó un máximo de 19 y uno de 18 para hombres y mujeres, respectivamente. Por otro lado, las células en cariorrexis muestran una mayor dispersión en el caso de las mujeres con datos entre 4 y 59 células por cada 1000 células contadas, mientras

que para los hombres el intervalo va de 5 a 28 células en cariorexis por cada 1000 células contadas. Finalmente, las células que se observan con cromatina condensada son mínimo 19 en ambos géneros, presentando un máximo de 113 para los hombres y uno de 148 para las mujeres. No se observaron diferencias significativas comparando entre hombres y mujeres (Figura 4).

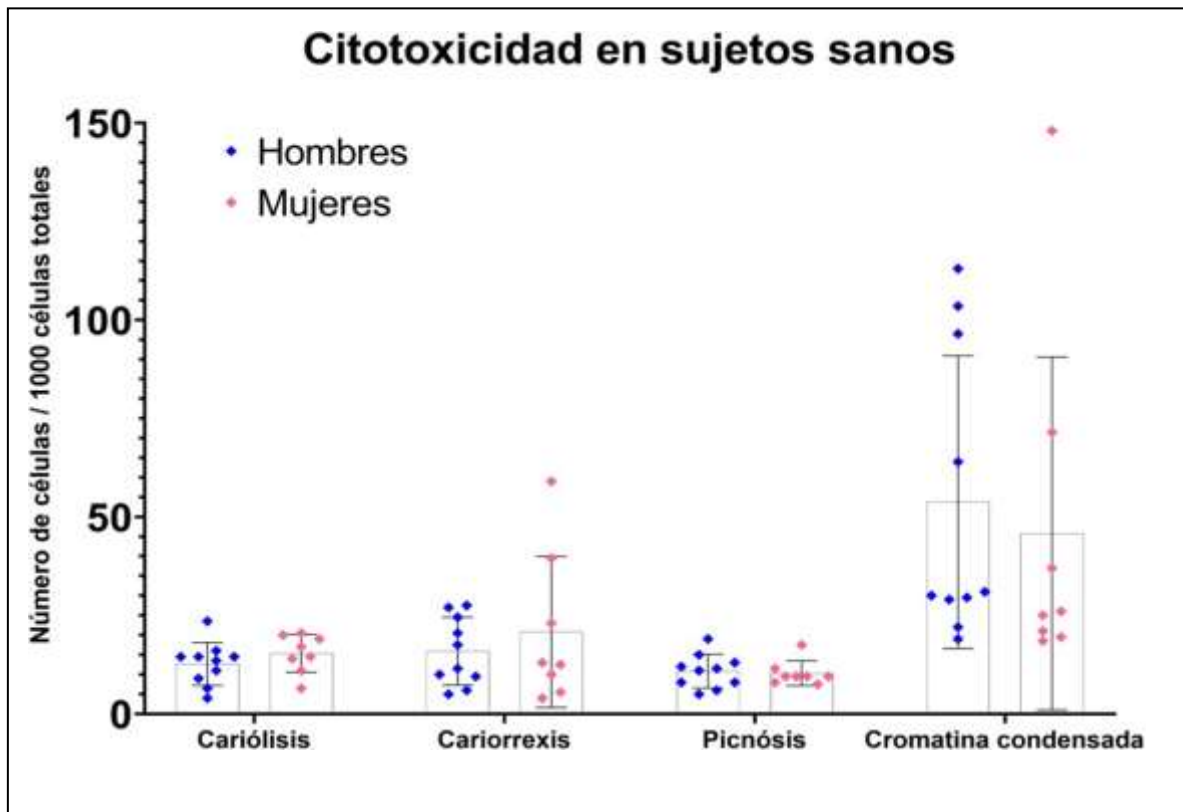


Figura 4. Citotoxicidad en sujetos sanos. Distribución de estadios celulares asociados con citotoxicidad determinados en muestras de epitelio bucal de sujetos sanos dependiendo del género. Los rombos representan los conteos de cada estadio celular por cada 1000 células totales, rombos azules (Hombres), rombos rosas mujeres (Mujeres).

Por otro lado, la genotoxicidad en sujetos sanos se determinó contando el número de gemas, micronúcleos y células binucleadas por cada 1000 células en muestras de epitelio bucal. En este sentido, el número de gemas oscila entre 1 y 4 tanto para hombre como para mujeres, teniendo

similar a la de los sujetos sanos. En el caso de los hombres diagnosticados con síndrome metabólico se determinaron de 6 a 21 células cariolíticas, de 25 a 69 en cariorexis, de 10 a 21 picnóticas y de 15 a 97 en las que se observa cromatina condensada. Mientras que para las mujeres los intervalos fueron de 8 a 13, 22 a 29, 7 a 12, y 10 a 22 para células cariolíticas, en cariorexis, picnóticas y con cromatina condensada respectivamente (Figura 6).

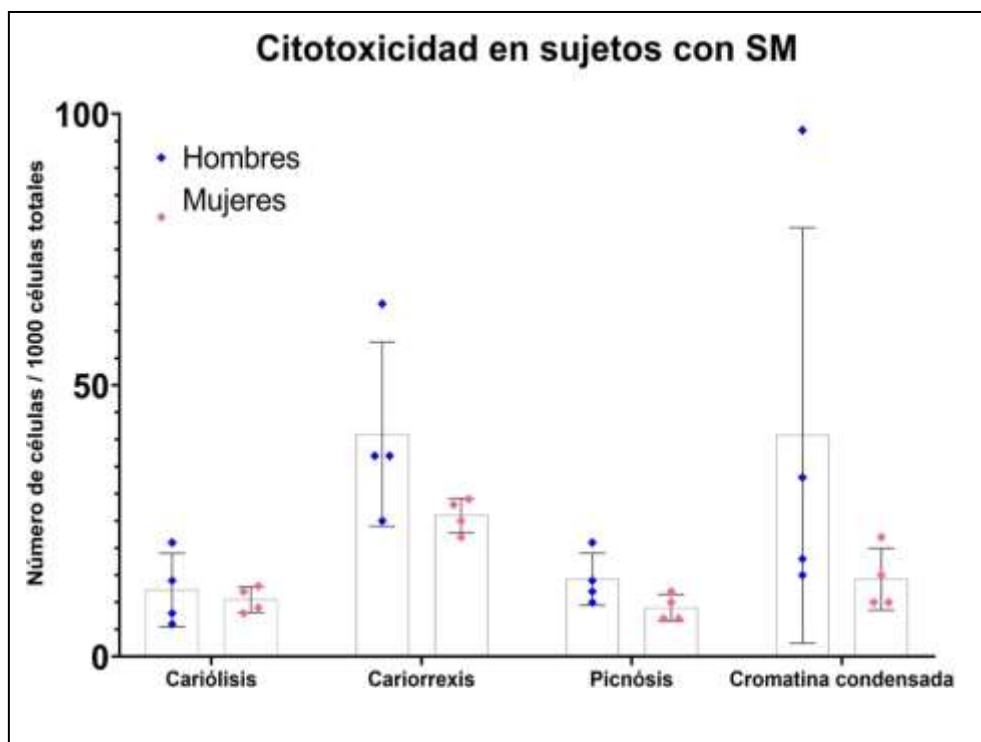


Figura 6. Citotoxicidad en sujetos con síndrome metabólico. Distribución de estadios celulares asociados con citotoxicidad determinados en muestras de epitelio bucal de sujetos diagnosticados con síndrome metabólico dependiendo del género. Los rombos representan los conteos de cada estadio celular por cada 1000 células totales, rombos azules (Hombres), rombos rosas mujeres (Mujeres).

La genotoxicidad determinada en muestras de epitelio bucal de sujetos con síndrome metabólico mostró que, la variabilidad en el número de gemas es mayor para los hombres en comparación con las mujeres, presentando de 6 a 23 gemas por cada 1000 células contadas mientras que las mujeres presentan de 6 a 8 gemas. Por otro lado, los hombres presentaron de 4 a 6 micronúcleos

por cada 1000 células contadas, mientras que las mujeres presentaron solo 2 o 3. En cuanto a células binucleadas las mujeres presentaron una mayor dispersión que va de 0 a 8, mientras que los hombres presentan entre 4 y 6 células binucleadas por cada 1000 células contadas (Figura 7).

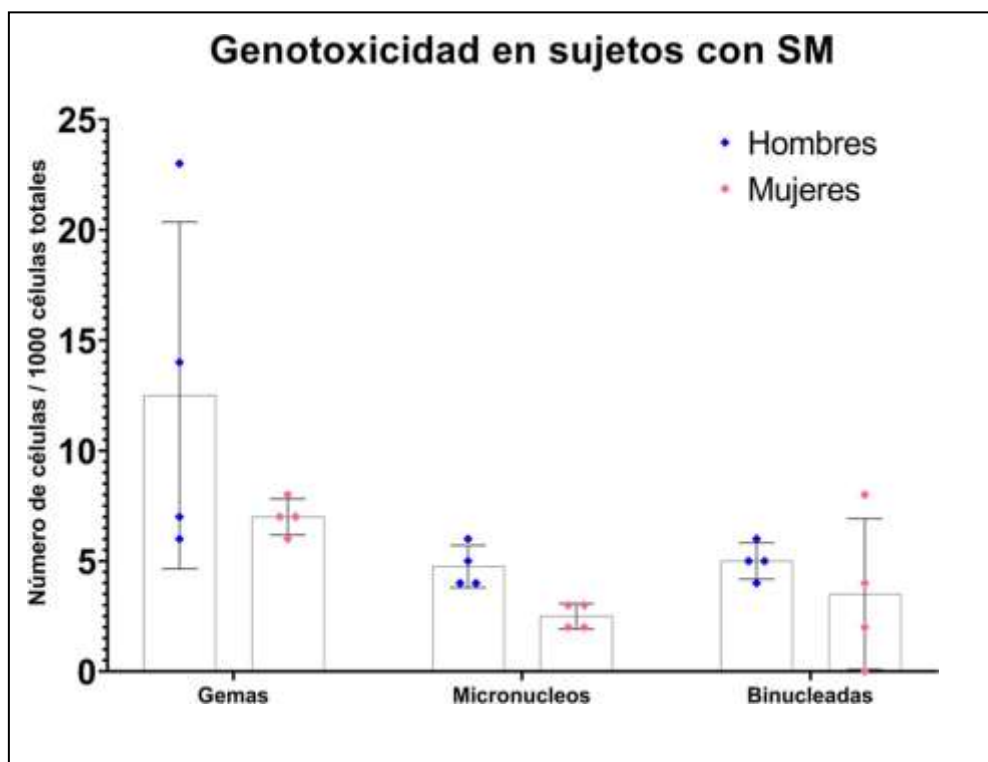


Figura 7. Genotoxicidad en sujetos con síndrome metabólico. Distribución de biomarcadores asociados con genotoxicidad (Gemas, micronúcleos, y células binucleadas) contadas en muestras de epitelio bucal de sujetos con síndrome metabólico. Los valores indican el número de células contadas por cada 1000 células en función del género del sujeto (Hombres representados en rombos azules y mujeres representadas rombos rosas).

Tomando en cuenta que no se observaron diferencias significativas asociadas con el género de los sujetos de estudio se optó por agruparlos en sujetos sanos y sujetos con síndrome metabólico para realizar un análisis descriptivo. Se determinó la media, mediana, desviación estándar,

mínimo y máximo para los biomarcadores determinados en las muestras de epitelio bucal (Tabla 1).

	DIAGNOSTICO	Cariólisis	Cariorexix	Picnosis	Cromatina Condensada	Buds	Micronucleos	Binucleadas
N	SANO	19	19	19	19	19	19	19
	SM	8	8	8	8	8	8	8
Media	SANO	13.6	17.9	11.2	49.8	3.47	2.16	2.89
	SM	11.4	33.5	11.6	27.5	9.75	3.63	4.25
Mediana	SANO	15	13	10	30	3	2	2
	SM	10.5	28.5	11.0	16.5	7.00	3.50	4.50
Desviación estándar	SANO	5.60	13.8	3.98	38.7	1.58	1.57	2.49
	SM	4.78	13.9	4.50	29.0	5.95	1.41	2.43
Mínimo	SANO	4	4	5	19	1	0	1
	SM	6	22	7	10	6	2	0
Máximo	SANO	24	59	19	148	8	7	10
	SM	21	65	21	97	23	6	8
25percentil	SANO	10.0	10.0	8.00	23.5	2.50	1.00	1.00
	SM	8.00	25.0	9.25	13.8	6.75	2.75	3.50
75percentil	SANO	16.5	24.0	12.5	68.0	4.00	3.00	3.00
	SM	13.3	37.0	12.5	24.8	9.50	4.25	5.25

Tabla 1. Estadística descriptiva de los biomarcadores determinados en muestras de epitelio bucal. En la tabla se resumen los resultados obtenidos para los sujetos considerados sanos que representan el control negativo (SANO) y los pacientes con síndrome metabólico (SM).

Los datos de citotoxicidad determinados en muestras de epitelio bucal no mostraron diferencias significativas entre sujetos sanos y con síndrome metabólico. Sin embargo, se observa una ligera tendencia hacia un mayor número de células en ariorexix en el caso de los sujetos con síndrome metabólico.

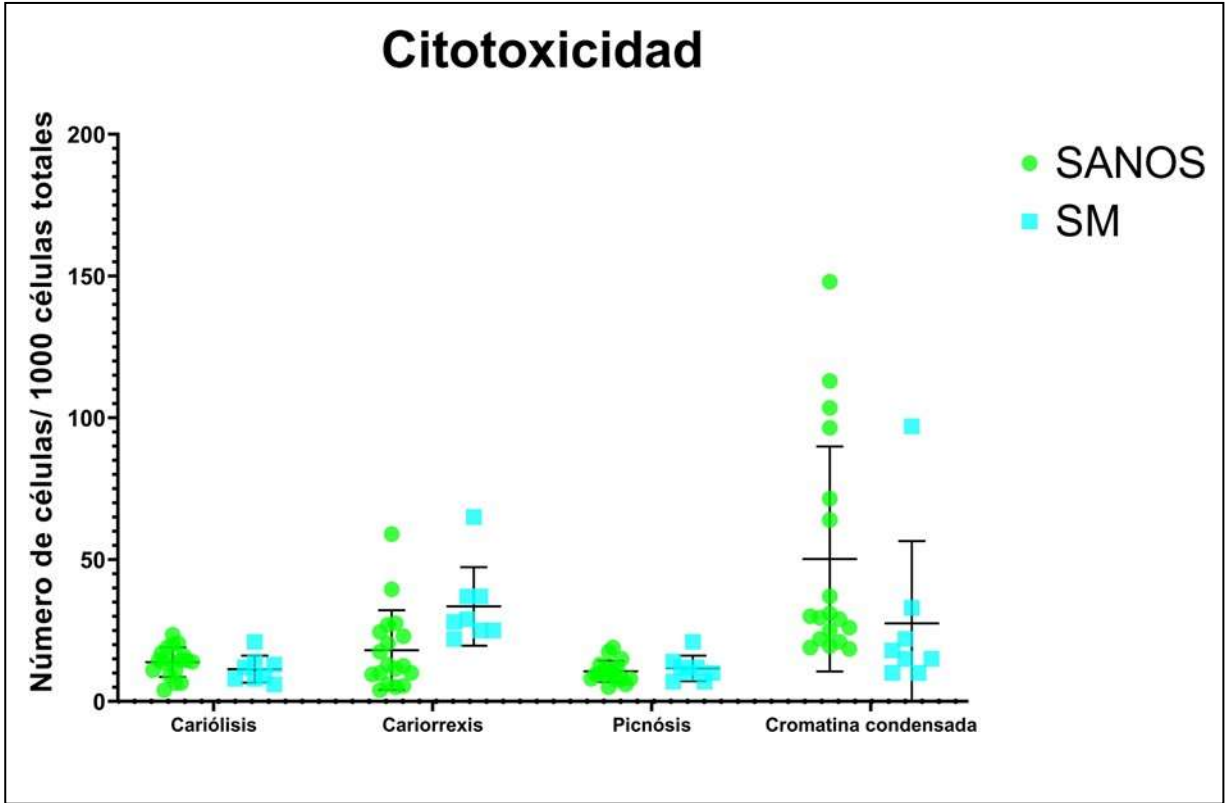


Figura 8. Citotoxicidad de sujetos sanos y con síndrome metabólico. La gráfica muestra los biomarcadores de citotoxicidad (cariólisis, cariorexix, picnósis y cromatina condensada) determinados en muestras de epitelio bucal de sujetos sanos (círculos verdes) y con síndrome metabólico (cuadrados azules). Los valores corresponden a una muestra poblacional de N=19 para control negativo (SANOS) y N=8 para individuos con síndrome metabólico (SM).

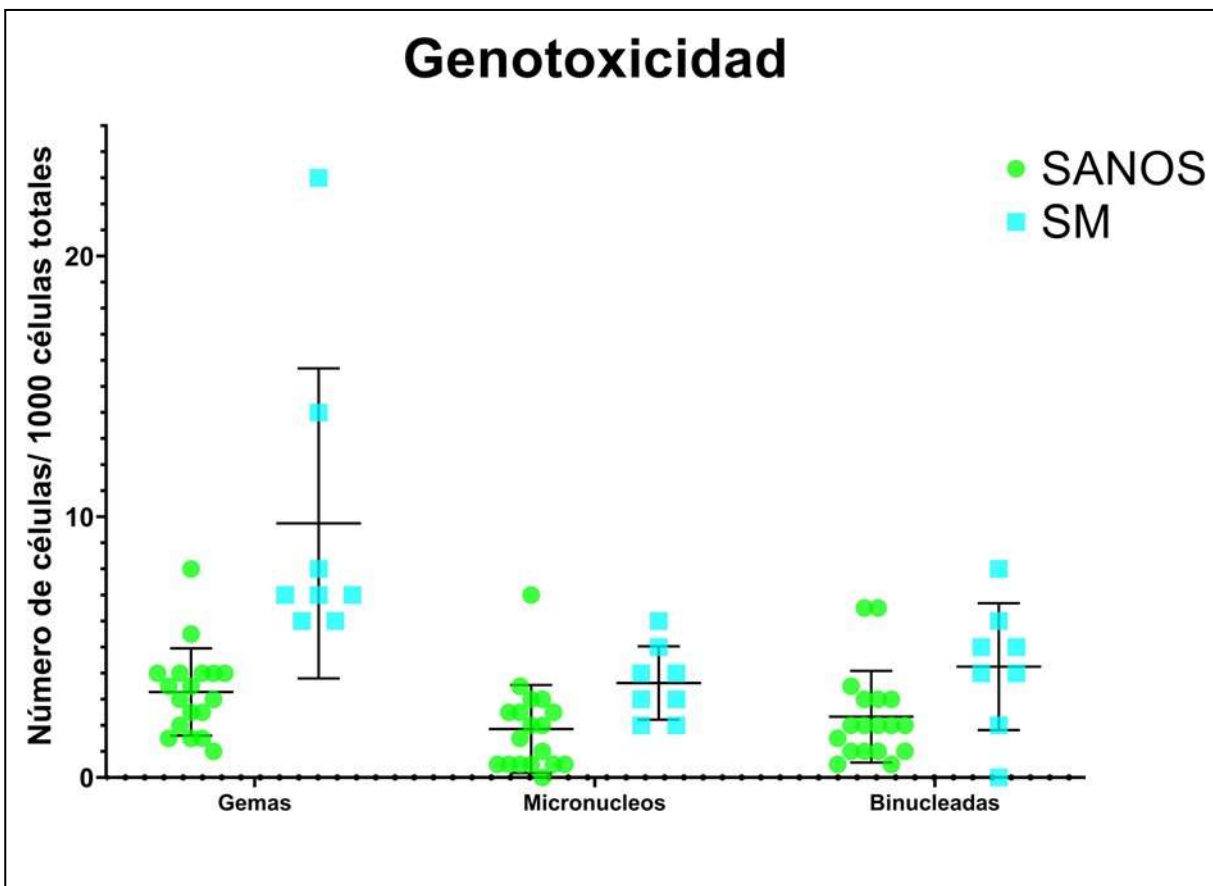


Figura 9. Genotoxicidad de sujetos sanos y con síndrome metabólico. La gráfica muestra los biomarcadores de genotoxicidad (Gemas, micronúcleos y células binucleadas) determinados en muestras de epitelio bucal de sujetos sanos (círculos verdes) y con síndrome metabólico (cuadrados azules). Los valores corresponden a una muestra poblacional de N=19 para individuos del grupo control (SANOS) y N=8 para individuos con síndrome metabólico (SM).

9.1 Pruebas de distribución

Las pruebas de dispersión nos proporcionan expresiones para cada distribución expresada por un número, que entre más pequeño sea, nos indicara que existe poca variabilidad entre los datos y por consecuente estos estarán más concentrados alrededor del promedio. No obstante, entre el número sea más grande nos indica mucha variabilidad y por consecuente los valores se hallan

muy dispersos con respecto al valor central. Para calcular estas medidas nos basamos en las diferencias y desviaciones de los valores (Gregory W. Corder nad Dale I. Foreman NO, 2014).

9.2 Biomarcadores de citotoxicidad

Se analizaron los conteos de los estadios celulares correspondientes a citotoxicidad, siendo estas 4 categorías celulares, donde se encuentran células Cariólisis, Cariorrexis, Picnosis y de Cromatina Condensada.

9.2.1 Pruebas distribución de los datos

Las pruebas paramétricas, tienen que cumplir las leyes de distribución normal para analizar los elementos de una muestra, se aplican a variables numéricas y deben mantener una población grande, ya que así permite que el cálculo sea más exacto. Por otro lado, las pruebas no paramétricas son aplicables para analizar datos que no tienen una distribución normal, por lo que en diversas ocasiones son aplicables en poblaciones más pequeñas (Gregory W. Corder nad Dale I. Foreman NO, 2014).

	W	p
Cariólisis	0.973	0.679
Cariorrexis	0.819	< .001
Picnosis	0.931	0.073
Cromatina Condensada	0.783	< .001

Tabla 2. Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) aplicada en biomarcadores de citotoxicidad. En la tabla se muestran los resultados de la prueba de normalidad Shapiro Wilk aplicada en los biomarcadores de citotoxicidad, donde W= representa la varianza y p= la probabilidad.

	F	gl	gl2	p
Cariólisis	0.36600	1	25	0.551
Cariorrexis	0.03180	1	25	0.860
Picnosis	0.00128	1	25	0.972
Cromatina Condensada	2.03706	1	25	0.166

Tabla 3. Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas aplicada en biomarcadores de citotoxicidad. Tabla de prueba de homogeneidad de Levene aplicada en los biomarcadores de citotoxicidad, donde F= estadístico F, gl y gl2= grados de libertad y p= probabilidad.

		Estadístico	p
Cariorrexis	U de Mann-Whitney	23.5	0.006
Cromatina Condensada	U de Mann-Whitney	31.0	0.018
Cariólisis	U de Mann-Whitney	54.0	0.252
Picnosis	U de Mann-Whitney	73.0	0.893

Tabla 4. Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes aplicada en biomarcadores de citotoxicidad. Tabla de prueba U de Mann-Whitney aplicada en los biomarcadores de citotoxicidad, donde p= Probabilidad.

Prueba aplicada para comprobar la igualdad de las dos distribuciones (individuos sanos y con SM) de los biomarcadores (cariólisis, ariorexis, picnosis y con cromatina condensada) que no cuentan con diferencia significativa en la prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad (Levene). La prueba nos reporta que en los biomarcadores de cariólisis, cariorexis, picnosis y cromatina condensada rechazan la hipótesis nula, ya que no existe una diferencia estadísticamente significativa según el principio de varianza, ya que su valor p está por arriba de 0.05.

9.2.2 Variabilidad de conteos celulares de individuos sanos en comparación con individuos con síndrome metabólico por biomarcador de citotoxicidad

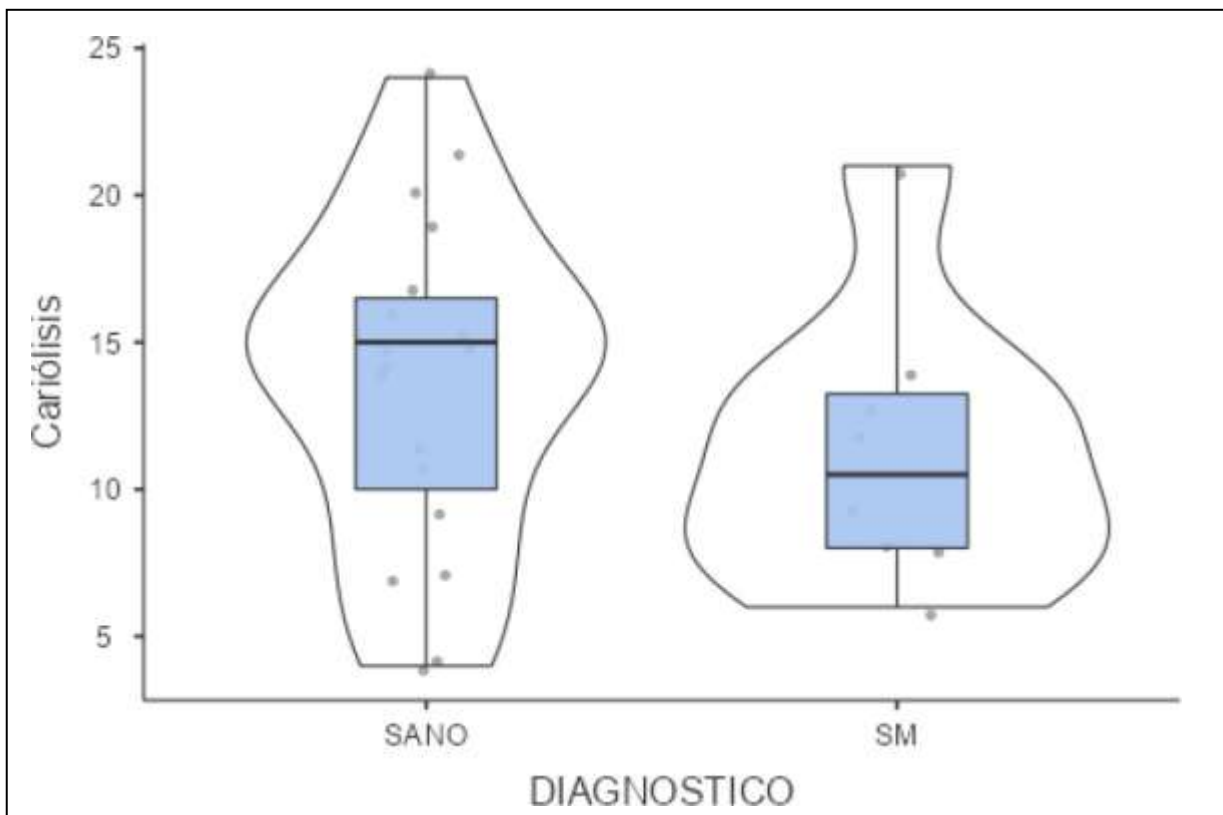


Figura 10. Grafica de distribución y dispersión de células cariolíticas en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células cariolíticas en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 0 a 25 células en cariólisis, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 4 y un valor máximo de 24, con una media de 14 células y un máximo de distribución en 15 células. Por otra parte, los individuos con síndrome metabólico presentan un valor mínimo de 6 y un valor máximo de 21, con una media de 11 células y un máximo de distribución de los datos en 10 células (Figura 10).

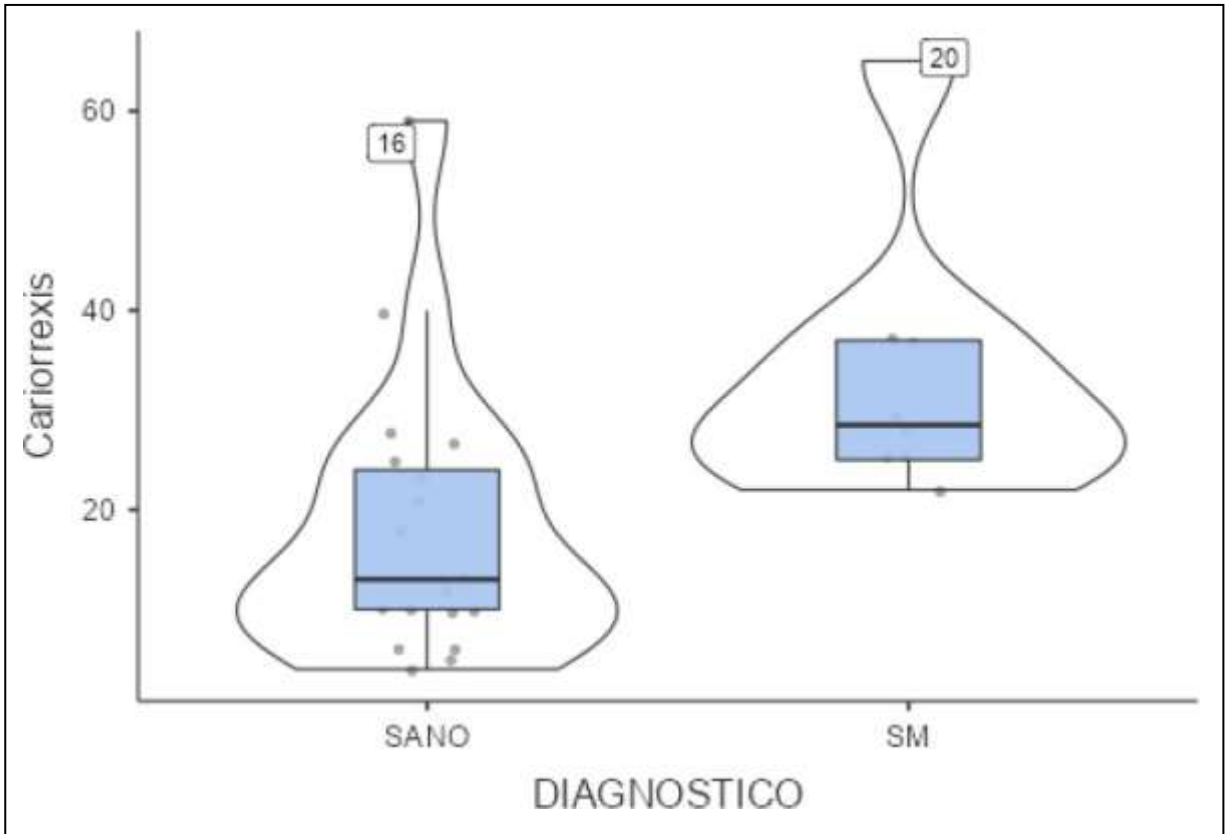


Figura 11. Gráfica de distribución y dispersión de células cariorexis en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células cariorexis en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 0 a 60 células en cariorexis, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 4 y un valor máximo de 59, con una media de 18 células y un máximo de distribución en 13 células. Por otra parte, los individuos con síndrome metabólico presentan un valor mínimo de 22 y un valor máximo de 65, con una media de 33 células y un máximo de distribución de los datos en 28 células (Figura 11).

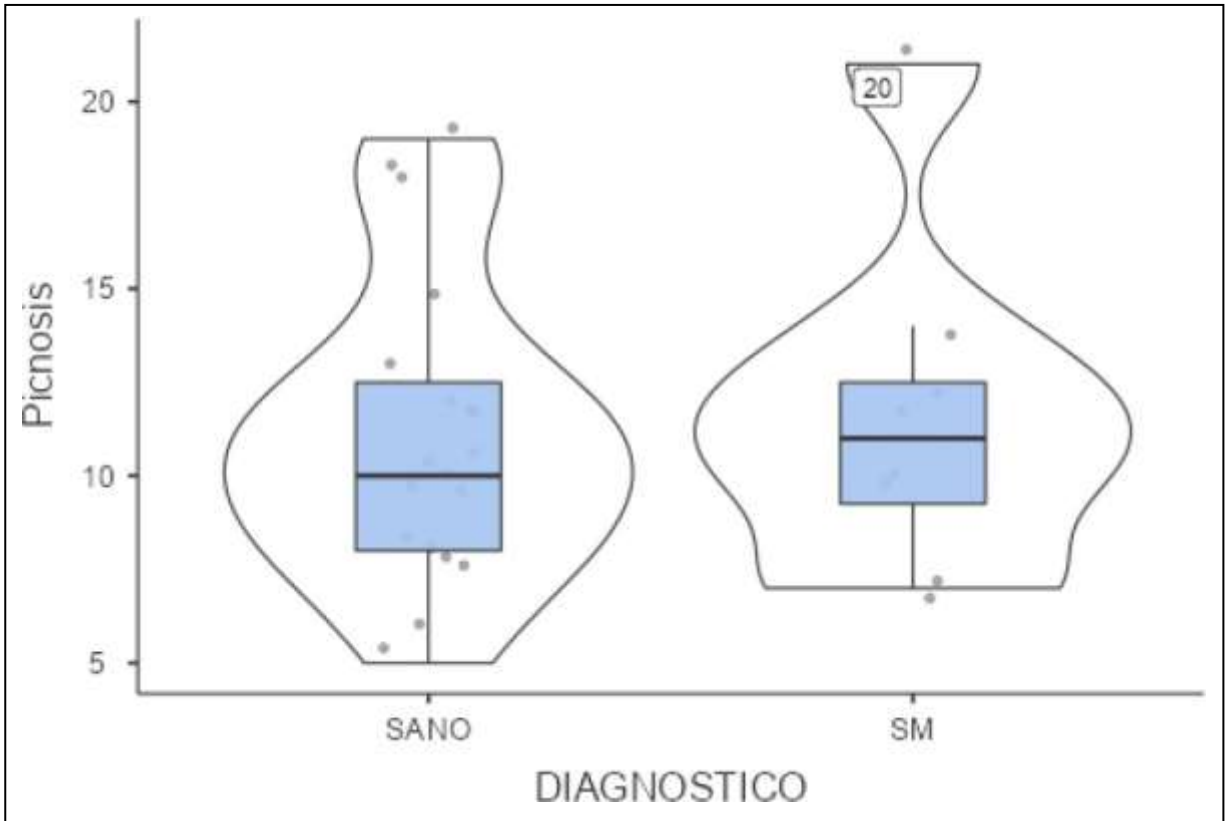


Figura 12. Gráfica de distribución y dispersión de células picnosis en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células picnóticas en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 5 a 25 células en picnosis, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 5 y un valor máximo de 19, con una media de 11 células y un máximo de distribución en 10 células. Por otra parte, los individuos con síndrome metabólico presentan un valor mínimo de 7 y un valor máximo de 21, con una media de 12 células y un máximo de distribución de los datos en 11 células (Figura 12).

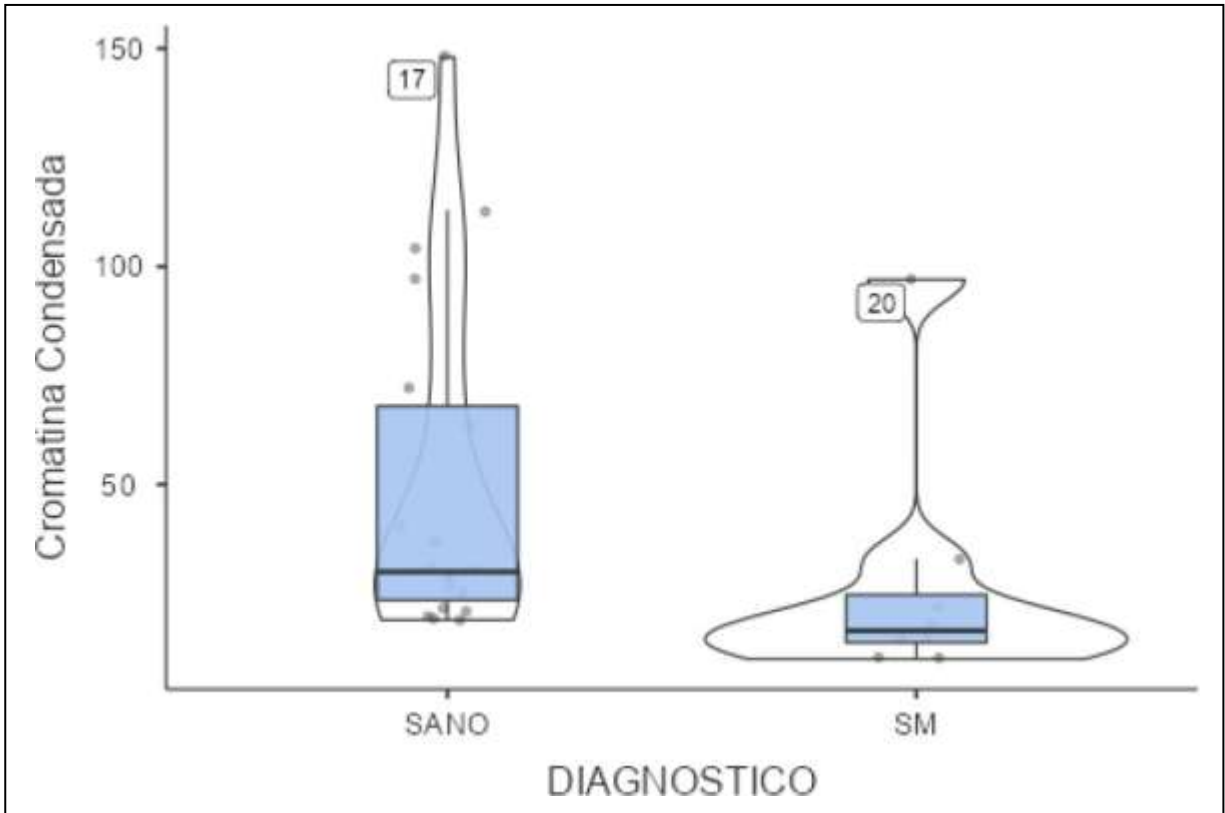


Figura 13. Gráfica de distribución y dispersión de células con cromatina condensada en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células con cromatina condensada en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 0 a 150 células con cromatina condensada, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 19 y un valor máximo de 148, con una media de 50 células y un máximo de distribución en 30 células. Por otra parte, los individuos con síndrome metabólico presentan un valor mínimo de 10 y un valor máximo de 97, con una media de 27 células y un máximo de distribución de los datos en 16 células (Figura 13).

9.3 Biomarcadores de Genotoxicidad

Se analizaron los conteos de los estadios celulares correspondientes a genotoxicidad, siendo estas 4 categorías celulares, donde se encuentran células con Buds, Micronucleos y Binucleadas.

	W	p
Buds	0.753	< .001
Micronucleos	0.894	0.010
Binucleadas	0.885	0.006

Tabla 5. Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) aplicada en biomarcadores de genotoxicidad. Tabla de prueba de Normalidad Shapiro Wilk aplicada en los biomarcadores de citotoxicidad, donde W= representa la varianza y p= Probabilidad.

	F	gl	gl2	p
Buds	12.90313	1	25	0.001
Micronucleos	0.00288	1	25	0.958
Binucleadas	2.79e-4	1	25	0.987

Tabla 6. Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas aplicada en biomarcadores de genotoxicidad. Tabla de prueba de homogeneidad de Levene aplicada en los biomarcadores de citotoxicidad, donde F= estadístico F, gl y gl2= grados de libertad y p= Probabilidad.

		Estadístico	p
Buds	U de Mann-Whitney	6.50	< .001
Micronucleos	U de Mann-Whitney	32.00	0.018
Binucleadas	U de Mann-Whitney	46.00	0.112

Tabla 7. Prueba U de Mann-Whitney para Muestras Independientes aplicada en biomarcadores de genotoxicidad. Tabla de prueba U de Mann-Whitney aplicada en los biomarcadores de citotoxicidad, donde p= Probabilidad.

Prueba aplicada para comprobar la igualdad de las dos distribuciones (individuos sanos y con SM) de los tres biomarcadores (gemas, micronucleos y binucleadas) que no cuentan con diferencia significativa en la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. La prueba nos reporta en los biomarcadores de gemas y micronúcleos rechazan la hipótesis nula, ya no existe una diferencia estadísticamente significativa según el principio de varianza, ya que su valor p está por debajo de 0.05.

9.3.2 Variabilidad de conteos celulares de individuos sanos en comparación con individuos con síndrome metabólico por biomarcador de genotoxicidad

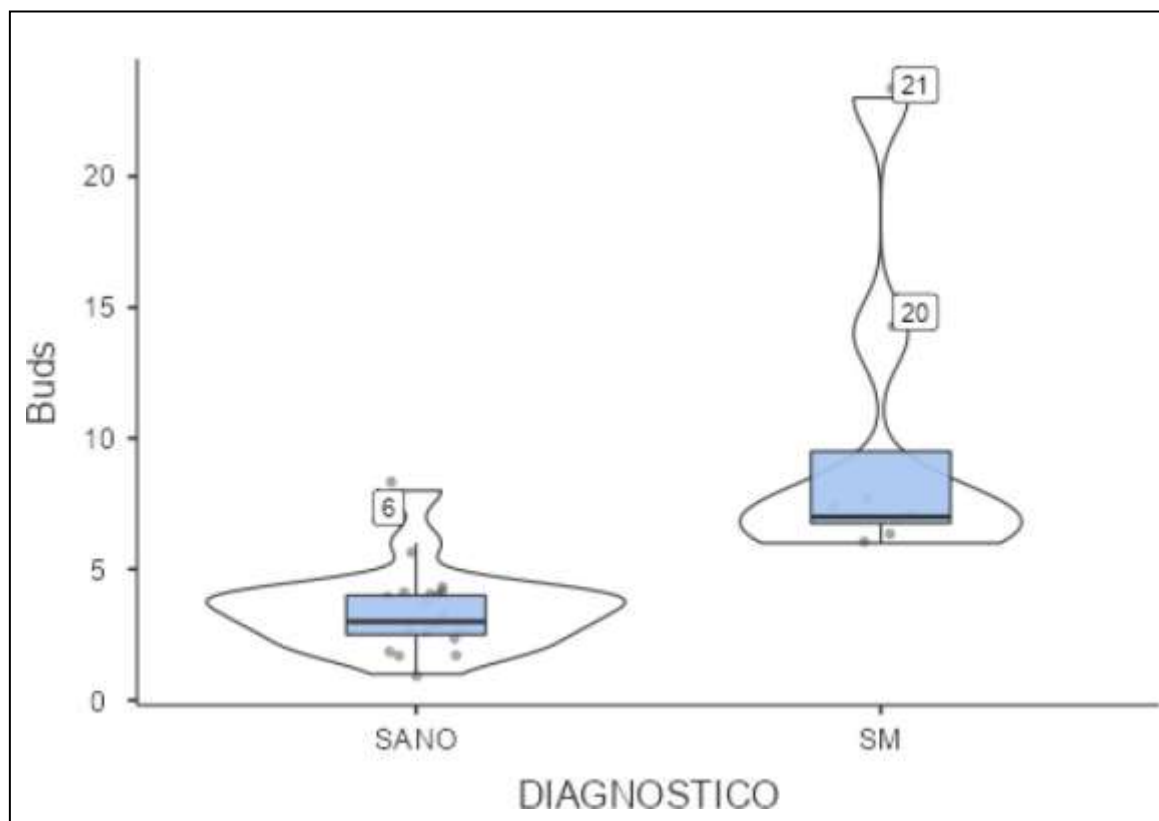


Figura 14. Gráfica de distribución y dispersión de células con buds en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células con gemas en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 0 a 25 células con gemas, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 1 y un valor máximo de 8, con una media de 3 células y un máximo de distribución en 3 células. Por otra parte, los individuos con síndrome metabólico presentan un valor mínimo de 6 y un valor máximo de 23, con una media de 10 células y un máximo de distribución de los datos en 6 células (Figura 14).

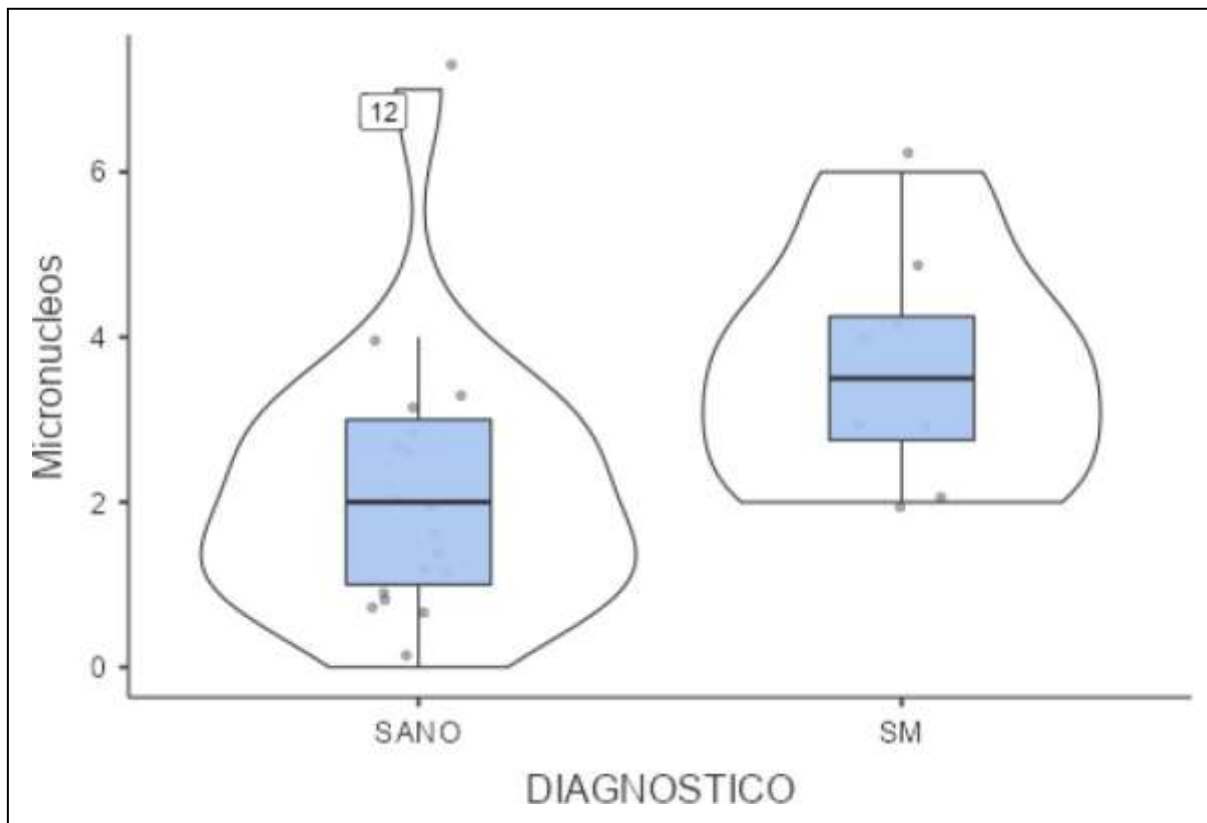


Figura 15. Gráfica de distribución y dispersión de células con micronúcleos en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células con micronúcleos en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 0 a 10 células con micronúcleos, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 7, con una media de 2 células y un máximo de distribución en 2 células. Por otra parte, los individuos con síndrome

metabólico presentan un valor mínimo de 2 y un valor máximo de 7, con una media de 4 células y un máximo de distribución de los datos en 3 células (Figura 15).

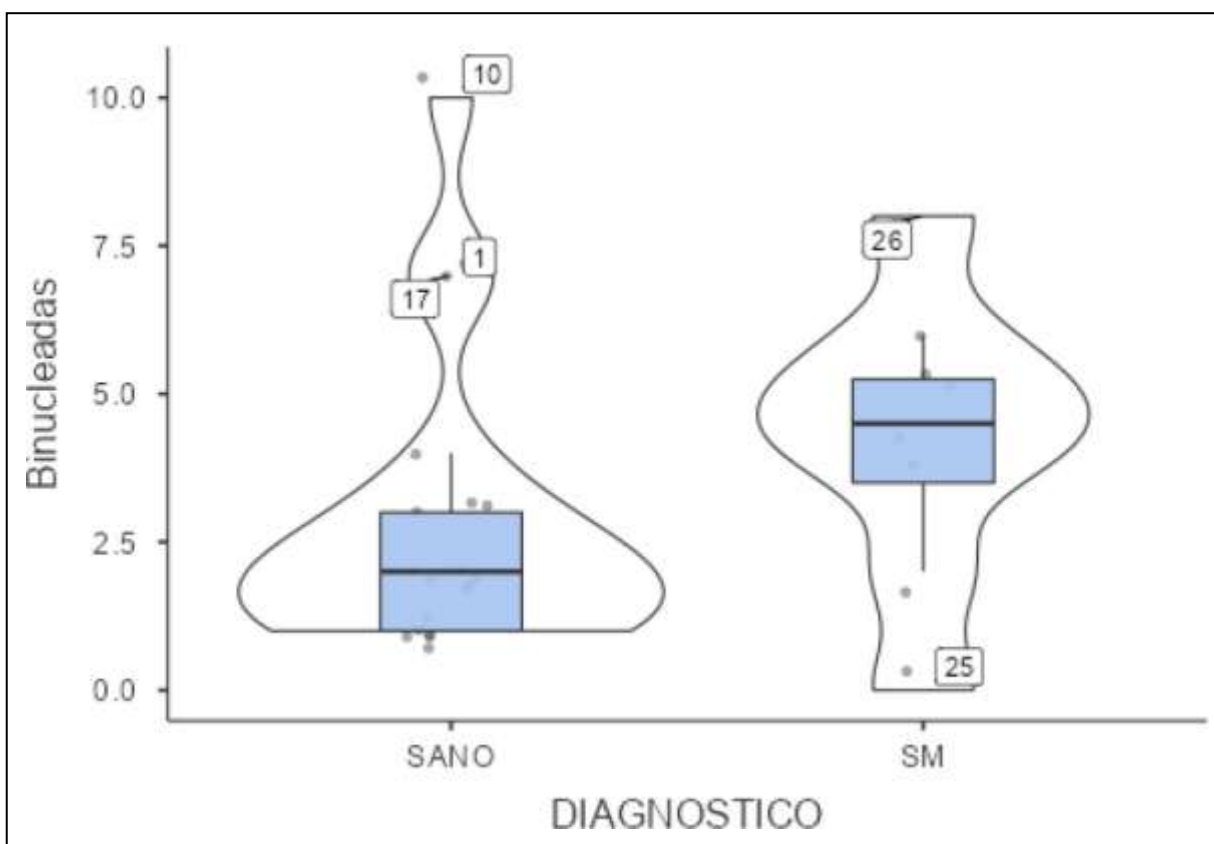


Figura 16. Gráfica de distribución y dispersión de células binucleadas en muestras de epitelio bucal. La gráfica de cajas y bigotes representa la distribución y dispersión del número de células binucleadas en función del diagnóstico, control negativo (SANO), pacientes con síndrome metabólico (SM), la media de la distribución (línea horizontal).

Se observa una distribución de los datos en un intervalo de 0 a 12 células binucleadas, los individuos sanos presentan un valor mínimo de 1 y un valor máximo de 10, con una media de 3 células y un máximo de distribución en 2 células. Por otra parte, los individuos con síndrome metabólico presentan un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 8, con una media de 4 células y un máximo de distribución de los datos en 4 células (Figura 16).

9.4 Análisis de correlación

Con el objetivo de determinar si existe alguna correlación entre los resultados obtenidos a partir de las encuestas y los análisis clínicos realizados, se realizó un análisis de correlación utilizando el modelo de matriz (Figura 17).

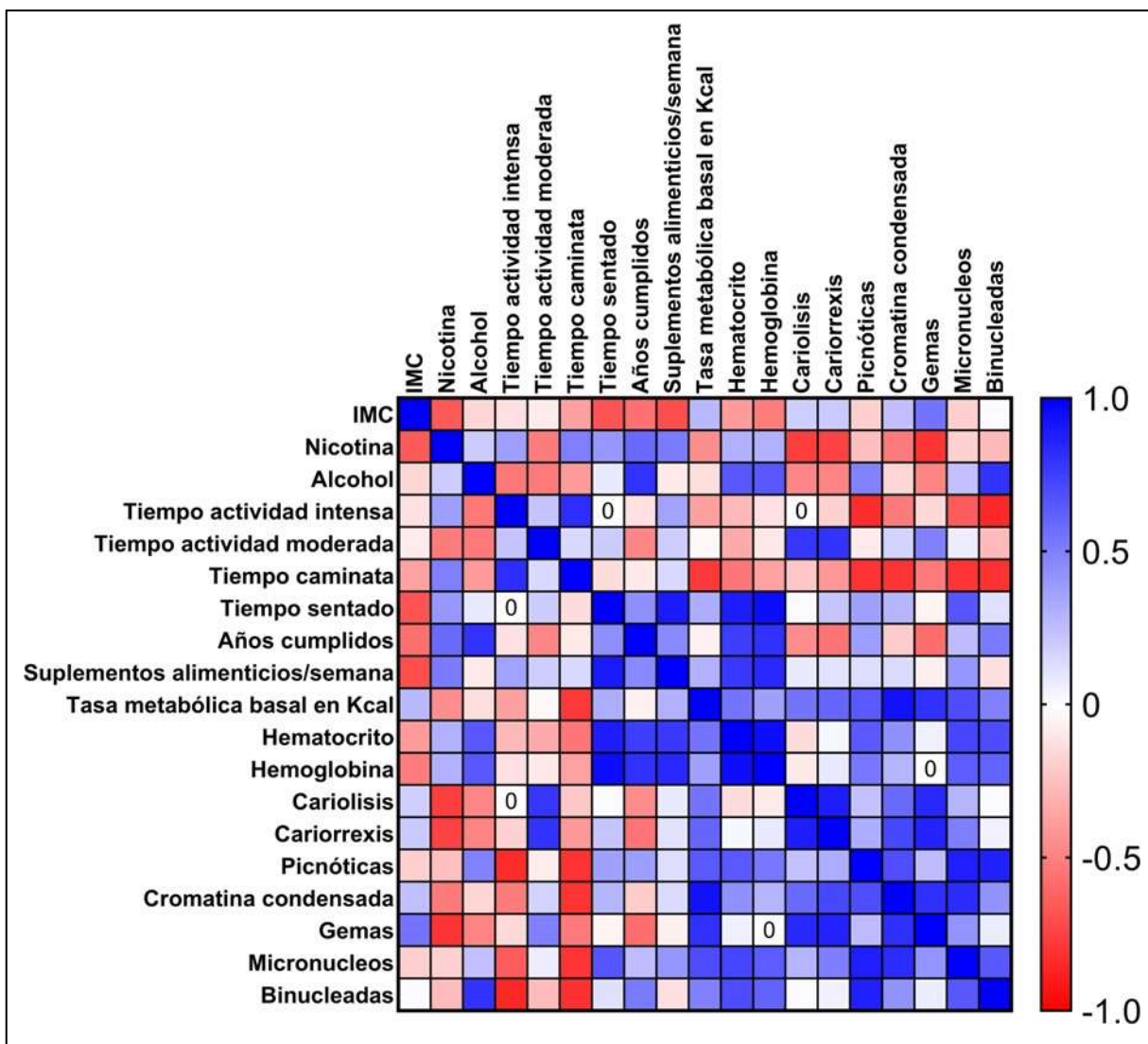


Figura 17. Matriz de correlación de individuos con síndrome metabólico. La gráfica de correlación paramétrico de Spearman. Representa la relación que existe entre las variables clasificadas en los datos de los individuos con síndrome metabólico (SM) donde 1.0 representa la máxima correlación positiva, 0 representa la inexistencia de correlación entre variables y -1.0 representa la máxima correlación negativa.

Se observa una correlación positiva o negativa en el cuadro donde convergen las variables en comparación, representadas con un color azul intenso a la máxima correlación positiva, bajando de tono e intensidad gradualmente según qué tanta relación aparente existen entre las variables, representada con un blanco claro la inexistencia de correlación entre variables y subiendo su tono e intensidad gradualmente según qué tanta relación negativa aparente existen entre las variables, representada con un rojo intenso la máxima correlación negativa. Se puede apreciar una correlación más positiva entre las variables relacionadas con homeostasis bioquímica (Tasa metabólica basal en Kcal, Hematocrito y Hemoglobina) en los biomarcadores correspondientes a genotoxicidad, así como una correlación negativa en variables asociadas a toxicomanías (Nicotina y Alcohol) en los biomarcadores de citotoxicidad (Figura 17).

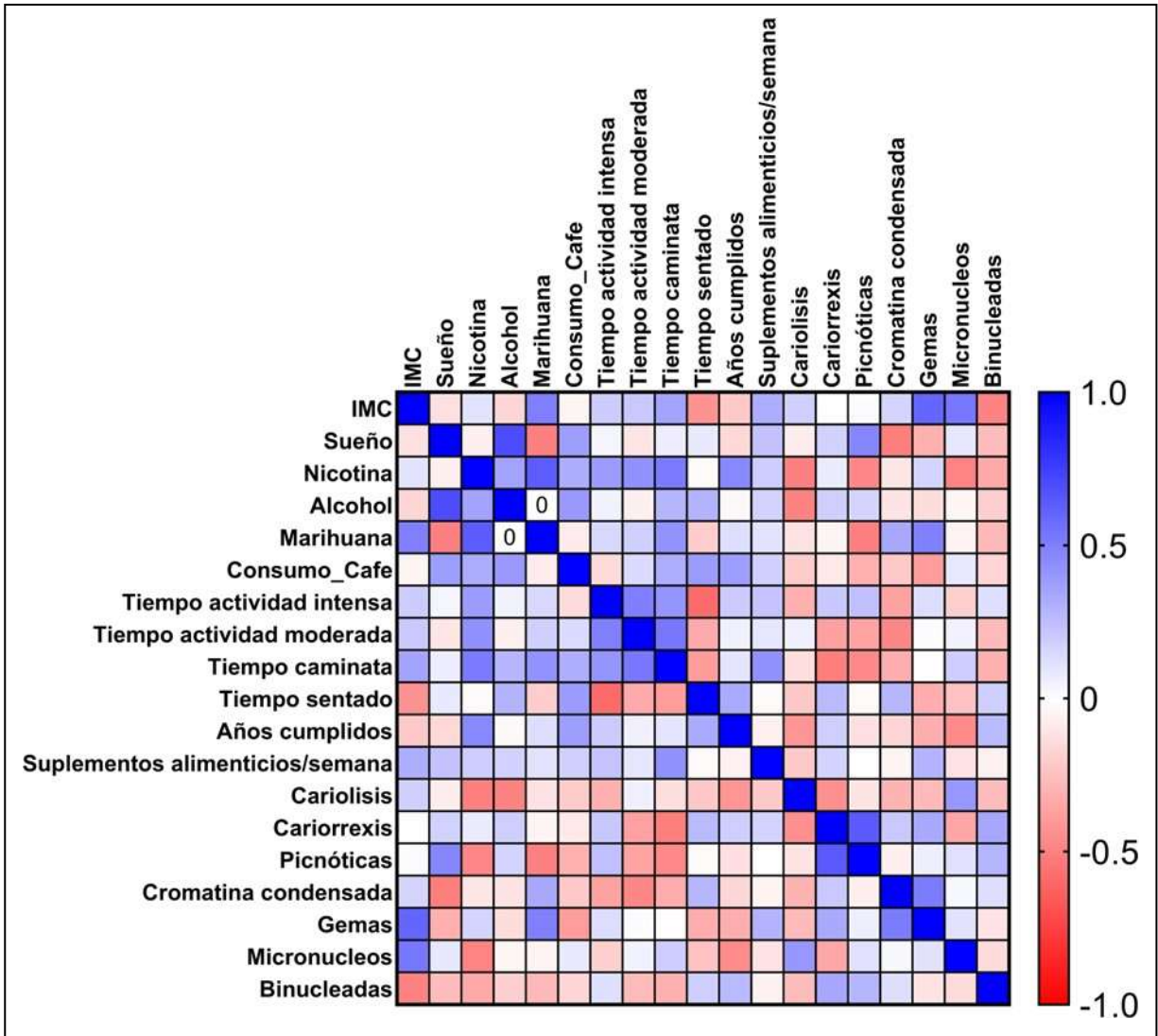


Figura 18. Matriz de correlación de individuos del grupo control. La gráfica de correlación paramétrico de Spearman. Representa la relación que existe entre las variables clasificadas en los datos de los individuos del grupo control (SANOS) donde 1.0 representa la máxima correlación positiva, 0 representa la inexistencia de correlación entre variables y -1.0 representa la máxima correlación negativa.

Se observa una correlación positiva o negativa en el cuadro donde convergen las variables en comparación, representadas con un color azul intenso a la máxima correlación positiva, bajando de tono e intensidad gradualmente según qué tanta relación aparente existen entre las variables, representada con un blanco claro la inexistencia de correlación entre variables y subiendo su tono e intensidad gradualmente según qué tanta relación negativa aparente existen entre las

variables, representada con un rojo intenso la máxima correlación negativa. Se puede apreciar una correlación con una tendencia positiva en variables asociadas al IMC en los biomarcadores de genotoxicidad, así como una correlación con una tendencia negativa en variables asociadas a la actividad física con respecto a los biomarcadores de citotoxicidad (Figura 18).

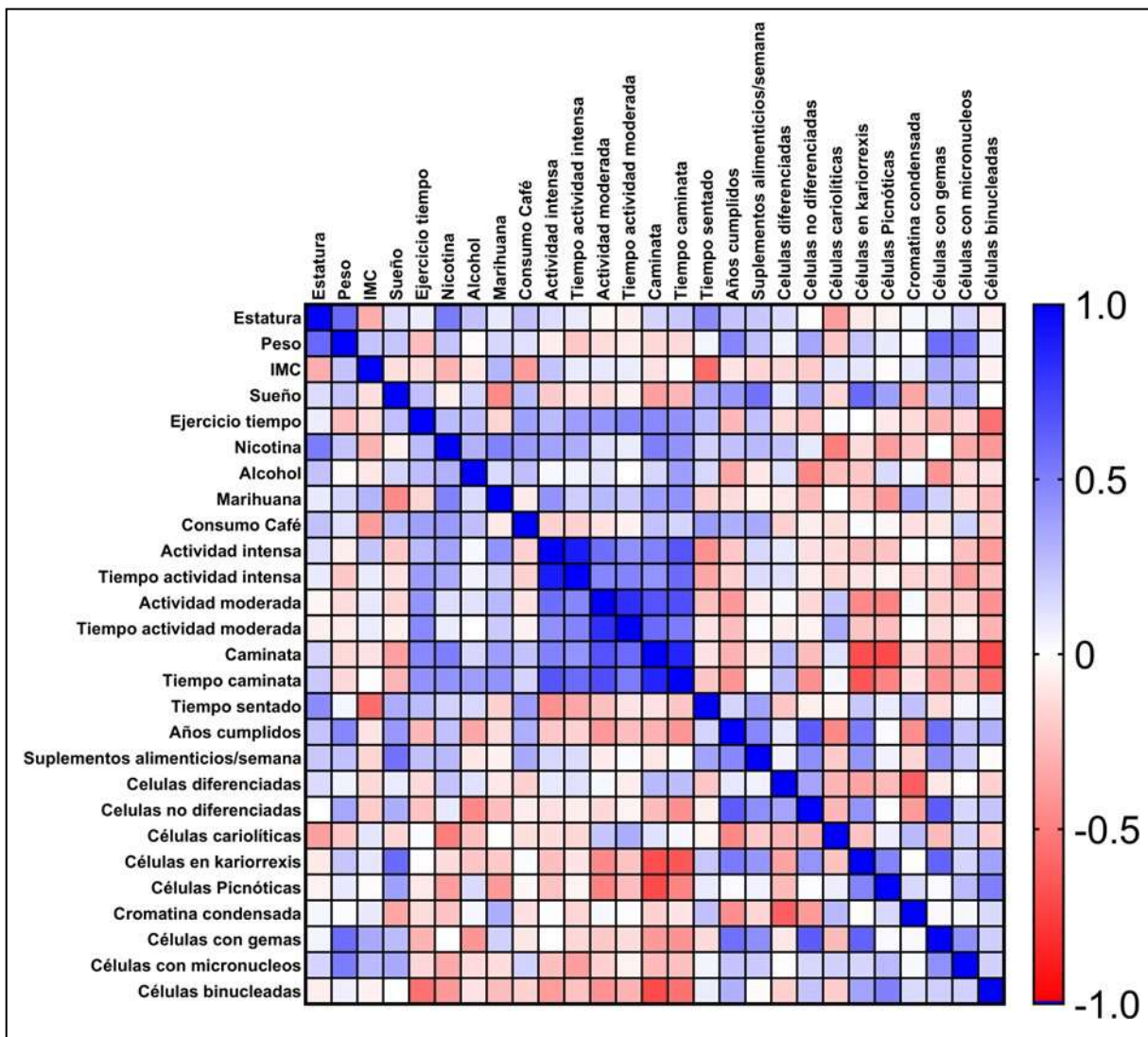


Figura 19. Matriz de correlación de individuos con síndrome metabólico en comparación con individuos del grupo control. La gráfica de correlación paramétrico de Spearman. Representa la relación que existe entre las variables clasificadas en los datos de los individuos con síndrome metabólico (SM) en comparación con los individuos del grupo control (SANOS) donde 1.0 representa la máxima correlación positiva, 0 representa la inexistencia de correlación entre variables y -1.0 representa la máxima correlación negativa.

Se observa una correlación positiva o negativa en el cuadro donde convergen las variables en comparación, representadas con un color azul intenso a la máxima correlación positiva, bajando de tono e intensidad gradualmente según qué tanta relación aparente existen entre las variables, representada con un blanco claro la inexistencia de correlación entre variables y subiendo su tono e intensidad gradualmente según qué tanta relación negativa aparente existen entre las variables, representada con un rojo intenso la máxima correlación negativa. Se puede apreciar una correlación con una tendencia positiva en variables asociadas edad y al estilo de vida (Peso, IMC, Sueño, Suplementación) en los biomarcadores de genotoxicidad, así como una correlación con una tendencia negativa en variables asociadas a actividad física con respecto a los biomarcadores de citotoxicidad (Figura 19).

10. DISCUSIÓN

El síndrome metabólico (SM) fue reconocido hace poco menos de 100 años y se ha descrito como un conjunto de variaciones físicas, químicas, clínicas y fisiológicas, con amplias variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena, determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales lo que conduce a una agrupación de problemas de salud (Dra. Mariela Edith López, 2007). Además, una de las enfermedades asociadas con el síndrome metabólico es la diabetes mellitus, cuyo aumento en incidencia y prevalencia en el mundo ha generado una alarma en los sistemas de salud. Específicamente en México más de 150 mil personas fallecieron a causa de complicaciones asociadas directamente con la diabetes mellitus (INEGI, 2021).

Por otro lado, se ha reportado que existe una correlación entre la diabetes y obesidad con un alto nivel de daño oxidativo en el ADN asociado con un aumento de especies reactivas de oxígeno, lo que genera una disfunción en el genoma (Ippei Shimizu, 2014). Es por esto por lo que en este estudio se planteó determinar el daño cito y genotóxico en células de epitelio bucal de pacientes sanos y con síndrome metabólico.

- Citotoxicidad

Los biomarcadores que corresponden a estadios celulares caracterizados por alteraciones morfológicas en la integridad de la célula, pueden estar asociados con daños externos o exposición a agentes tóxicos, causas por las cuales el incremento en el daño estructural celular se ve expresado en el ADN, principalmente en tejido basal por los elevados niveles de moléculas proinflamatorias y de proliferación celular aumentando el estrés oxidativo causando variaciones osmolares extracelulares, esto por los mecanismos asociados a la inflamación que incluyen la acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROS) así como alteraciones metabólicas, tales como la lipólisis que a través de las enzimas NADPH oxidasas citosólicas y de la cadena

respiratoria mitocondrial, pueden ocasionar efectos de radicales de oxígeno intracelular los cuales incrementan los niveles de las EROS y por consiguiente pueden inducir aductos de ADN, así como rupturas de doble cadena, deleciones y translocaciones cromosómicas, mismos que promueven inestabilidad genómica y mitocondrial. Este estadio puede estar asociado a envejecimiento temprano celular en proceso adaptativo reversible de muerte celular programada (Carvajal, 2017). Es importante denotar que la información reportada no logra hacer una correlación entre estudios de causa y efecto ya que aún no es claro si el daño oxidativo al ADN promueve el SM o si el daño del ADN es el resultado de la toxicidad prolongada causada por los factores de riesgo del SM. Nuestros resultados muestran un incremento en los conteos en 1 de los 4 estadios celulares, siendo un crecimiento exponencial con lo que respecta al estadio de cariorexis, presentando un incremento del 87% con respecto al control negativo (SANO) a los pacientes con síndrome metabólico (SM), biomarcador que está asociado a inestabilidad genómica por presentar patrón nuclear densamente moteado indicativo de fragmentación nuclear, lo que provoca que se observe que conduce a la eventual desintegración del núcleo (Thomas et al., 2009). Por el contrario, nos muestra que en el estadio de cromatina condensada presenta un 45% menos en los pacientes con síndrome metabólico (SM) con respecto al control negativo (SANO), este biomarcador que se caracteriza por mostrar un patrón nuclear estriado en el que la cromatina se agrega en algunas regiones del núcleo mientras se pierde en otras, invariablemente dan como resultado núcleos fragmentados, experimentando etapas tempranas de apoptosis (Thomas et al., 2009), lo que se puede interpretar por una inestabilidad genómica circunstancial, en un proceso de envejecimiento temprano celular, así como una expresión de una concentración elevada de EROS. En estudios similares reportan la inestabilidad genómica asociados a factores de riesgo de SM. En el estudio de “Biochemical and genetic studies on cardiometabolic syndrome. Indian J Clin Biochem” se reportó un incremento, aunque no

significativo, al analizar individualmente alteraciones metabólicas de individuos clínicamente sin síndrome metabólico, pero con factores de riesgo asociados al mismo, en una población con un intervalo de edad entre los 27 y 55 años, evidenciando que de manera temprana posiblemente existe una alteración del material genético asociado a los factores del síndrome metabólico (Supriya Simon et al., 2010). No obstante, pocos estudios que abordan variaciones metabólicas y factores de riesgos asociados a homeostasis celular muestran los reportes de inestabilidad genómica por estadio celular, lo cual abre la oportunidad de nuevas investigaciones dirigidas a los factores de riesgo y variaciones homeostáticas asociadas a síndrome metabólico con respecto al daño citototóxico.

- **Genotoxicidad**

Los biomarcadores que corresponden a estadios celulares caracterizados por alteraciones nucleares en la integridad de la célula, pueden estar asociados con daños externos, internos o con exposición a agentes tóxicos, ya que las alteraciones estructurales como el acortamiento de telómeros, aductos en el ADN o rupturas de doble cadena, son expresiones de interferencia con la fase mitótica del ciclo celular, por lo que se ven alteradas porciones de material genético, estas siendo ligados a expresión de interferencia con mecanismos de regulación celular, dejando así unas concentraciones elevadas de especies reactivas de oxígeno, secundarias a ineficiencia en los complejos enzimáticos de regulación, interferidos por fallas en las cargas intracelulares con expresión excesiva de cationes, es así que la conservación y reparación de material genético se expresa con la eliminación de material nuclear por gemación (Carvajal, 2017). Es importante denotar que la información reportada no logra hacer una correlación entre estudios de causa y efecto ya que aún no es claro si el daño oxidativo al ADN promueve el SM o si el daño del ADN es el resultado de la toxicidad prolongada causada por los factores de riesgo del SM. Nuestros

resultados muestran unos conteos con un incremento del 95% en promedio en los pacientes con síndrome metabólico (SM), con respecto al control negativo (SANO), principalmente se aprecia un incremento exponencial en el biomarcador de gemas, siendo este un proceso de gemación por constricción aguda aparente en un extremo del núcleo. Actualmente se desconoce el mecanismo que conduce la eliminación de material nuclear por gemación, pero puede estar relacionado con la eliminación del ADN amplificado o la reparación de este (Thomas et al., 2009). Hay estudios que reportan valores elevados de 8-oxo-dG, uno de los indicadores de daño oxidativo, en los individuos con SM que podría deberse a la agregación de factores de riesgo asociados como el aumento de LDL, VLDL, triglicéridos y apolipoproteína B, irregularidades en niveles glicémicos asociados a resistencia a la insulina, obesidad e hipertensión, principalmente en el estudio de “Evaluation of genetic damage in patients with Metabolic Syndrome in a population of Cauca, Colombia. A case-control study” menciona la estrecha relación entre estilo de vida, exacerbación de factores asociados a síndrome metabólico e inestabilidad genómica (Carvajal, 2017).

En general se observa que existe una tendencia a una mayor cito y genotoxicidad en pacientes con síndrome metabólico en comparación con sujetos sanos. Sin embargo, es necesario incrementar el tamaño de la muestra para tener datos suficientes que permitan demostrar el efecto y así, plantear proyectos de intervención para mejorar la salud de la población en general.

11. CONCLUSIONES

El síndrome metabólico es un conjunto de alteraciones que pueden conducir a patologías como la diabetes mellitus que, a nivel mundial y específicamente en México representa un problema de salud pública. En este sentido, se ha reportado que la diabetes mellitus y la obesidad, ambas directamente asociadas con el síndrome metabólico pueden generar daño en ADN derivado de la producción de especies reactivas de oxígeno.

En este trabajo se evaluaron biomarcadores de cito y genotoxicidad en células de epitelio bucal de pacientes sanos (N=19) y con síndrome metabólico (N=8). Se determinó que existe un incremento en el biomarcador de células en cariorexis en los sujetos con síndrome metabólico en comparación con el control, así como un aumento en el número de gemas lo que representa un mayor daño genotóxico.

Derivado de las encuestas y los análisis clínicos realizados, se pudo observar que existe una correlación positiva entre los biomarcadores asociados con genotoxicidad y variables como la edad, peso, índice de masa corporal, horas de sueño y consumo de suplementos alimenticios. Sin embargo, es necesario aumentar el tamaño de muestra y establecer un sistema de encuesta que permita una interpretación directa para una determinación más específica de la asociación entre el síndrome metabólico y la inestabilidad genómica.

12. BIBLIOGRAFIA

- Aiassa, D. , M. F. , B. B. , G. N. , B. N. , & G. N. (2012). Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana*, 17(3), 485–510.
- Armando T.; Natalia M.; Nimbe T. (2005). Regulación del metabolismo del colesterol y ácidos grasos en el síndrome nefrótico experimental por las proteínas que se unen a los elementos regulatorios de esteroides (SREBP's): efecto de la soya. *Gaceta Médica de México*, 141(5).
- Armiñana, J. R. , & B. F. G. (2006). Técnicas de histología vegetal. *Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Universidad Politécnica de Valencia*, 16, 20–21.
- Barruco, C. , G.-F. A. , C. C. , H. A. , V. E. , & P. de T. (1999). Evaluación mutagénica y genotóxica de los productos químicos. *Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica, Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental*, 271–288.
- Bolognesi, C., Knasmueller, S., Nersesyan, A., Thomas, P., & Fenech, M. (2013). The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 753(2), 100–113. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2013.07.002>
- Bonassi, S., Biasotti, B., Kirsch-Volders, M., Knasmueller, S., Zeiger, E., Burgaz, S., Bolognesi, C., Holland, N., Thomas, P., & Fenech, M. (2009). State of the art survey of the buccal micronucleus assay- A first stage in the HUMNXL project initiative. In *Mutagenesis* (Vol. 24, Issue 4, pp. 295–302). <https://doi.org/10.1093/mutage/geb019>
- Carlos Carvajal Carvajal. (2019). REACTIVE OXYGEN SPECIES: TRAINING, FUNCTION AND OXIDATIVE STRESS. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91–100.
- Carrillo Navarro, M. C. (2017). Lesiones bucodentales ocasionadas por el consumo de alcohol y cigarrillo. *Bachelor's Thesis, Quito*.
- Carvajal, D. , M. J. C. , R.-C. A. B. , P.-C. J. , Á.-R. R. , M. J. , & C.-S. N. (2017). Evaluation of genetic damage in patients with Metabolic Syndrome in a population of Cauca, Colombia. A case-control study. *Salutem Scientia Spiritus*, 3(2), 12–21.
- Castañeda-Yslas, I. J., Arellano-García, M. E., García-Zarate, M. A., Ruíz-Ruíz, B., Zavala-Cerna, M. G., & Torres-Bugarín, O. (2016). Biomonitoring with Micronuclei Test in Buccal Cells of Female Farmers and Children Exposed to Pesticides of Maneadero Agricultural Valley, Baja California, Mexico. *Journal of Toxicology*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/7934257>
- Claudia Bolognesi; Siegfried Knasmueller; Armen Nersesyan; Philip Thomas; Michael Fenech. (2013). The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Elsevier*, 753(2), 100–113.
- de la Peña E, H. i, G. A. (1999). EVALUACIÓN MUTAGÉNICA Y GENOTÓXICA DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS. *Superior e Investigación Científica, Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental*, 1, 271–288.
- Dra. Ana R.; Dra. Mayra L.; Dr. Leonardo M. (2002). Síndrome metabólico. *Revista Cubana de Endocrinología*, 13(3).
- Dra. Mariela Edith López, Dra. M. A. S. Dr. N. P. M. L. (2007). SINDROME METABOLICO. *Revista de Posgrado de La Via Cátedra de Medicina.*, 174, 2–15.
- Érika A. Contreras-Leal, J. S.-G. (2011). Obesidad, síndrome metabólico y su impacto en las enfermedades cardiovasculares. *Rev Biomed*, 22(3), 103–115.
- Gill, B. S., & Friebe, B. (1998). Plant cytogenetics at the dawn of the 21st century. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(2), 109–115. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(98\)80011-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(98)80011-3)

- Gregory W. Corder nad Dale I. Foreman NO. (2014). NONPARAMETRIC STATISTICS A STEP BY STEP APPROACH. *John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.*, 2, 1–23.
- Herrera, J. C. (2007). La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los genomas vegetales. *Agronomía Colombiana* , 25(1), 26–35.
- Hugo H. Abarca Barriga, M. C. P. M. T. J. E. L. S.-I. J. A. P. (2018). Factores de riesgo en las enfermedades genéticas. *AMP Acta Médica Peruana*, 35(1), 43–50.
- INEGI. (2020). CARACTERÍSTICAS DE LAS DEFUNCIONES REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE 2020. *INEGI*, 592(21), 1–4.
- INEGI. (2021). ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL DE LA DIABETES. *INEGI, INSP, SALUD. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018.*, . 645(21), 1–5.
- Ing. Juan M. Núñez. (2020). Continúan en aumento las cosechas del ciclo agrícola Otoño-Invierno en los campos del Municipio de Ensenada. *Gobierno de Mexico Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural* , 1.
- Ipppei Shimizu, Y. Y. M. S. and T. M. (2014). DNA Damage Response and Metabolic Disease. *Cell Metabolism*, 20, 967–977.
- J. C. Rodríguez Pérez; F. Rodríguez Esparragón; J. Nóvoa. (2007). PPAR-gamma, hipertensión arterial y riñón. *NEFROLOGÍA*, 27(1), 6–10.
- Karp, G. (2014). Biología celular y molecular: Conceptos y experimentos . *McGraw-Hill.*, 7a ed.
- Manjarrez Zavala, M. E. S. C. J. R. Z. C. P. L. C. Margarita. (1994). Fijación y tinción de las placas de los virus herpes simple tipo 1 y sincitial respiratorio / Fixing and staining of tipe 1 herpes simplex and respiratory syncytial viruses plaques. *Rev. Inst. Nac. Enfermedades Respir* , 7(3).
- Marta Romero Fernández. (2019). Influencia de las características y experiencias del alumno y la valoración de los contenidos de la asignatura de Expresión Gráfica. *ESCUELA TECNICA SUPERIOR DE INGENIERIA INDUSTRIAL DE BARCELONA*, 1, 25–29.
- Martínez-Valenzuela, C. , & G.-A. S. (2007). RIESGO GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23(4), 185–200.
- Megías M, M. P. P. MA. (2018). Atlas de histología vegetal y animal. *Facultad de Biología Universidad de Vigo España*, 1–10.
- Nussbaum, R. L. , M. R. R. , W. H. F. & E. D. (2016). Thompson & Thompson. Genética en Medicina + StudentConsult . *Elsevier España, S.L.U.*, 8a ed., 03–31.
- OMS. (2019). *Diabetes y Enfermedades Cardiovasculares*. 11 de Junio 2019.
- OMS. (2020). Las 10 principales causas de defunción . *Organización Mundial de La Salud* , 1.
- Paul Zimmet, K. G. M. A. M. S. R. (2005). A New International Diabetes Federation Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome: the Rationale and the Results. *Revista España de Cardiología*, 58(12), 1371–1375.
- Penchaszadeh, V. B. (1993). Genética y salud publica. *Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*, 115(1).
- Ramírez, J. A. & L. M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67–75.
- REAGENTS S.A. (2016). 1492 VERDE RAPIDO FCF (C.I. 42053) Pro-análisis. *CICARELLI*, 23(3), 2–5.
- Ross, M. H. , & P. W. (2020). Histología: Texto y atlas color con biología celular y molecular . *Wolters Kluwer*, 8.
- Supriya Simon, A., Dinesh Roy, D., Jayapal, V., & Vijayakumar, T. (2010). Biochemical and genetic studies on cardiometabolic syndrome. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25(2), 164–168. <https://doi.org/10.1007/s12291-010-0030-1>

- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., & Fenech, M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6), 825–837. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.53>
- Tibisay Matheus Lobo, A. B. (2014). Micronúcleos: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. *Salus*, 18(2).