



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y  
CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA  
MÉDICA**

**ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**“ASOCIACIÓN ENTRE EL RECuento DE MICRONÚCLEOS  
EN CÉLULAS DE EPITELIO BUCAL Y TABAQUISMO EN  
ESTUDIANTES DE LA EPTM-UAP ICA, DICIEMBRE 2017”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO  
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO  
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**RAMOS MARTÍNEZ, LISSETTE GIOVANNA**

**ASESOR:**

**MAG. JULIA MORÓN VALENZUELA**

**Ica, Perú**

**2018**

# HOJA DE APROBACIÓN

RAMOS MARTÍNEZ, LISSETTE GIOVANNA

**“ASOCIACIÓN ENTRE EL RECuento DE MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS DE EPITELIO BUCAL Y TABAQUISMO EN ESTUDIANTES DE LA EPTM-UAP ICA, DICIEMBRE 2017”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de laboratorio clínico y anatomía patológica por la Universidad Alas Peruanas.

---

---

---

ICA- PERÚ

2018

Se Dedicar este Trabajo:

A mis Padres, que con esfuerzo, sacrificio y amor me impulsaron a culminar mi vida universitaria.

A mis Hermanas, por su apoyo, alegría, ayudaron a estar firme en mi objetivo principal.

A mi padrino que con sus frases para la vida siempre me alentó a seguir superándome para llegar a ser una gran profesional.

A Dios por sus bendiciones en cada día de mi vida.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta tesis a:

Médico patólogo clínico Víctor Gómez Anchante por haberme asistido en la lectura de cada una de las láminas de células de epitelio bucal, de igual manera al Lic. José Ajalcriña Hernández, Lic. T.M. Richard Ramírez Asurza.

Mg. Jaime Rosales Rimache por su apoyo en el desarrollo de los análisis estadísticos.

A mi Alma Mater “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” y a cada uno de sus integrantes por brindarme los permisos correspondientes y por su participación en el presente.

“Señor, no hay nada demasiado pequeño para una criatura tan pequeña como el hombre. Es con el estudio de las cosas pequeñas que conseguimos tener tan poca tristeza y tanta felicidad como sea posible”. **Samuel Johnson.**

## RESUMEN

El tabaquismo es el hábito de fumar, el cual es considerado como un factor de riesgo importante en el desarrollo de cáncer. Los micronúcleos son estructuras que tienen utilidad como marcadores de riesgo a cáncer oral. En ese sentido, se diseñó un estudio prospectivo transversal que buscó asociar el tabaquismo al recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal obtenidos de estudiantes de la escuela profesional de Tecnología Médica de la Universidad Alas Peruanas de Ica.

Se evaluaron 129 estudiantes cuyo promedio de edad fue de  $24.9 \pm 5.4$  y el 58.1% fueron mujeres. El 25.6% eran fumadores activos, cuyo recuento promedio de micronúcleos fue de  $3.9 \pm 2.4$ , mientras que en los no fumadores de  $0.5 \pm 1.2$ , con diferencia significativa ( $p < 0.001$ ). La edad, sexo, número de cigarrillos consumidos y tiempo como fumador no generaron diferencias significativas en el recuento de micronúcleos. Se empleó la regresión de Poisson para estimar el promedio de recuento de micronúcleos asociado a tabaquismo, el cual fue de 2.12 con un valor significativo ( $p < 0.001$ ) a un intervalo de confianza de 95% de 1.62 a 2.63 y ajustado por grupo etario y sexo. También se observó que los estudiantes con tabaquismo presentaron 9.7 veces más riesgo de tener más de 2 MN/2000 células, ajustado por edad y sexo, y con un valor significativo ( $p < 0.001$ ) y un intervalo de confianza al 95% de 4.4 a 21.6. En conclusión, el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal está asociado al tabaquismo en estudiantes de Tecnología Médica de la UAP de Ica.

Palabras clave: Micronúcleos, Células, Epitelio bucal, Tabaquismo (MeSH).

## ABSTRACT

Smoking is the smoking habit, which is considered as a major risk factor in the development of cancer. Micronuclei are structures that have utility as risk markers for oral cancer. In that sense, a prospective cross-sectional study was designed that sought to associate smoking with the micronucleus count in oral epithelial cells obtained from students of the medical school of Medical Technology at the Alas Peruanas University of Ica.

We evaluated 129 students whose average age was  $24.9 \pm 5.4$  and 58.1% were women. 25.6% were active smokers, whose mean micronucleus count was  $3.9 \pm 2.4$ , while in non-smokers  $0.5 \pm 1.2$ , with a significant difference ( $p < 0.001$ ). The age, sex, number of cigarettes consumed and time as a smoker did not generate significant differences in the micronucleus count. Poisson regression was used to estimate the mean number of micronuclei counts associated with smoking, which was 2.12 with a significant value ( $p < 0.001$ ) at a 95% confidence interval of 1.62 to 2.63 and adjusted for age group and sex. It was also observed that students with smoking had a 9.7 times higher risk of having more than 2 MN / 2000 cells, adjusted for age and sex, and with a significant value ( $p < 0.001$ ) and a 95% confidence interval of 4.4 a 21.6. In conclusion, the micronucleus count in buccal epithelial cells was associated with smoking in medical technology students at UAP in Ica.

Key words: Micronuclei, Cells, Oral epithelium, Smoking (MeSH)

## LISTA DE CONTENIDOS

CARÁTULA .....	1
HOJA DE APROBACIÓN.....	2
DEDICATORIA .....	3
AGRADECIMIENTO .....	4
EPÍGRAFE .....	5
RESUMEN .....	6
ABSTRACT .....	7
LISTA DE CONTENIDO (ÍNDICE) .....	8
INTRODUCCIÓN .....	13
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	15
1.1. Descripción de la realidad problemática :.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.2. Formulación del Problema:.....	16
1.2.1. Problema General: .....	16
1.2.2. Problemas Secundarios:.....	16
1.3. Objetivos de la investigación: .....	17
1.3.1. Objetivo General:.....	17
1.3.2. Objetivos Específicos: .....	17
1.4. Justificación de la investigación:.....	17
1.4.1. Importancia de la investigación: .....	18
1.4.2. Viabilidad del estudio:.....	19
1.5. Limitaciones del estudio: .....	19
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	20
2.1 Antecedentes de la investigación :.....	20
2.1.1. Antecedentes Nacionales:.....	20
2.1.2. Antecedentes Internacionales: .....	22
2.2. Bases Teóricas:.....	26
2.2.1. Epidemiología y fisiopatología del tabaquismo .....	26

2.2.2. Tabaquismo y formación de micronúcleos.....	28
2.3. Definición de términos básicos.....	30
CAPÍTULO III: HIIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
3.1. Formulación de hipótesis:.....	33
3.1.1. Hipótesis general.....	33
3.1.2. Hipótesis específicas.....	33
3.2. Variables de Estudio:.....	33
3.2.1. Operacionalización de varibales:.....	34
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA.....	35
4.1. Diseño metodológico:.....	35
4.2. Diseño muestral, matriz de consistencia.....	36
4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad : ...	38
4.4. Técnicas del procesamiento de la información.....	39
4.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la informacion:.....	40
4.6. Aspectos éticos contemplados:.....	40
CAPÍTULO V ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	41
5.1. Análisis descriptivo.....	41
5.2. Análisis inferencial:.....	42
5.3. Técnicas estadísticas empleadas:.....	43
5.4. Discusión, conclusiones y recomendaciones.....	45
ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	50
ANEXO N° 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	52
ANEXO N° 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	54
ANEXO N° 4: FICHAS DE VALIDACIÓN POR JUICIO DE EXPERTOS.....	55
ANEXO N° 5: TOMA DE MUESTRAS DE CÉLULAS DE EPITELIO BUCAL.....	59
ANEXO N° 6: PROCEDIMIENTO PARA EL RECUENTO DE MICRONÚCLEOS ....	61
ANEXO N° 7: GRÁFICOS.....	62
ANEXO N° 8: SALIDAS STATA DE CÁLCULOS ADICIONALES.....	65
REFERENCIAS_BIBLIOGRÁFICAS.....	68

## LISTADO DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Características descriptivas de las variables de estudio	41
Tabla 2. Análisis bivariado entre recuento de micronúcleos y variables independientes	42
Tabla 3. Factores independientemente asociados al recuento de micronúcleos (como variable numérica) en células de epitelio bucal	43
Tabla 4. Asociación entre tabaquismo y recuento de micronúcleos (como variable dicotómica) en células de epitelio bucal	44

## LISTADO DE GRÁFICOS

	<b>Pág.</b>
Gráfico 1. Histogramas de las variables numéricas: edad, número de cigarrillos fumados, tiempo como fumador y recuento de micronúcleos en células bucales	62
Gráfico 2. Frecuencias de las variables categóricas: sexo, tabaquismo, número de cigarrillos fumados por semana y tiempo como fumador	63
Gráfico 3. Distribución del recuento de MN según sexo, tabaquismo, número de cigarrillos fumados y tiempo como fumador	64

## **ABREVIATURAS**

ADN: Ácido desoxiribonucleico

INEI: Instituto Nacional de Estadística e Informática

INEN: Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

MN: Micronúcleo

OMS: Organización Mundial de la Salud

## INTRODUCCIÓN

Los indicadores epidemiológicos de los últimos años reflejan un incremento dramático de casos de cáncer en nuestro país. El cáncer es una enfermedad que tiene una base etiológica a nivel genético muy importante, que surge de daño al ADN y eventos que implican mutaciones dominantes, grandes reordenamientos de ADN y todas las mutaciones puntuales, dando lugar a distorsiones ya sea de la expresión o función bioquímica de los genes (1). El cáncer oral es uno de los 10 tipos de cáncer más comunes en el mundo; los sitios primarios de ocurrencia incluyen mucosa bucal, lengua, alvéolos, encía, paladar, labios y base de la boca. El cáncer oral es un problema de salud importante en términos de morbilidad y mortalidad de los pacientes; la tasa de supervivencia a 5 años es de aproximadamente 50-55% (2).

La detección temprana proporciona al paciente mejor oportunidad para el tratamiento. El diagnóstico de cáncer oral puede ser establecido con la ayuda de los procedimientos de biopsia o citología exfoliativa, utilizando métodos como la prueba de toluidina azul (3) y el método de unión a la naranja de acridina (4). En los últimos años, se vienen utilizando e implementando numerosos procedimientos tales como la microscopía electrónica, histoquímica, inmunología, estudios cromosómicos y otros. Los estudios citogenéticos han revelado la presencia de aberraciones cromosómicas la cual complementa el estudio de células epiteliales, sanguíneas y otras, en poblaciones expuestas a riesgos carcinogénicos (5). Las pruebas citogenéticas tales como el intercambio de cromátides hermanas, aberraciones cromosómicas y la frecuencia de células micronucleadas tienen parámetros sensibles como para evaluar los efectos genotóxicos y mutagénicos de los agentes químicos o físicos (6).

Si analizamos los factores de riesgo que se asocian al desarrollo de eventos carcinogénicos, el consumo de cigarrillos o tabaquismo

representa uno muy importante en la epidemiología de la enfermedad. Varios trabajos han demostrado que el hábito de fumar ha generado incremento en el recuento de micronúcleos con diferencias significativas entre grupos de fumadores y no fumadores (9). El hecho es que el hábito de fumar es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer oral y otros tipos, considerando que biológicamente es posible que el humo del tabaco inhalado circule a través de partículas adhiriendo diversos productos químicos y gaseosos los cuales tienen contacto directo con el paladar blando, dorso de la lengua y otras partes de la cavidad oral, para posteriormente proseguir con la orofaringe, esófago y amígdalas (6, 7).

Por lo mencionado anteriormente, la presenta propuesta de tesis busca evaluar la asociación entre el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la escuela profesional de Tecnología Médica de la Universidad Alas Peruanas de Ica.

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

De acuerdo a lo reportado por la Liga Peruana Contra el Cáncer, el 65% de estudiantes universitarios entre 19 y 25 años de edad, fuman, mientras que la población restante tiene exposición pasiva al humo generado por los cigarrillos. Sin embargo, el porcentaje señalado es en función a algunos estudios realizados en universidades públicas, mientras que en las privadas como es el caso de la Universidad Alas Peruanas, es desconocida, y se podría presumir que, dada las diferencias socioeconómicas de los estudiantes de universidad públicas y privadas, podría modificar también la proporción de fumadores universitarios (8)

Además, según datos proporcionados por el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI), de cada 10 personas de 15 a más años, 2 fumaron al menos un cigarrillo sea de manufactura industrial o artesanal. Según información de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2013 esta práctica es más generalizada en los hombres que en las mujeres; así de cada 100 hombres 35 fuman tabaco, mientras que de cada 100 mujeres 8 fuman. Por grupo de edad, la tendencia de fumar al menos un cigarrillo en los últimos 12 meses se reduce conforme avanza la edad. En este contexto el 25,7% de las personas de 15 a 29 años declaró haber fumado uno o más cigarrillos completos; este porcentaje disminuye a 21,6% en el grupo de 30 a 39 años y 40 a 49 años de edad y a 12,3% entre las personas de 60 y más años de edad. El INEI informó que, de acuerdo con el nivel educativo, el 27,8% de personas con educación superior consume cigarrillos, el 22,6% con educación secundaria realiza esta práctica y el 10,9% en el caso de las personas con primaria o menos (9).

Cabe indicar que el consumo del tabaco presenta una asociación causal con el desarrollo de cáncer de pulmón, cavidad oral, faringe, laringe, esófago, páncreas, vejiga urinaria y pelvis renal; y además constituye un fuerte factor

de riesgo para el cáncer de cavidades nasales y senos paranasales, nasofaringe, estómago, hígado, riñón (carcinoma de células renales) y cuello uterino; Para el adenocarcinoma del esófago y la leucemia mieloide (10).

Desafortunadamente, gran parte de los distintos tipos de cáncer son detectados en fases intermedias y avanzadas, generando complicación en el tratamiento de la enfermedad. No existen marcadores biológicos que tengan elevada sensibilidad y especificidad para detectar la presencia de células cancerosas en estadios tempranos de la enfermedad (11).

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema principal.**

¿Existe asociación entre el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017?

### **1.2.2. Problemas secundarios.**

- ✓ ¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según sexo?
- ✓ ¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según edad?
- ✓ ¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según frecuencia consumo de cigarrillos?
- ✓ ¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según tiempo de consumo de cigarrillos?
- ✓ ¿Cuál es la proporción de fumadores y no fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017?

### **1.3. Objetivo de la investigación.**

#### **1.3.1. Objetivo general.**

- ✓ Evaluar la asociación entre recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017

#### **1.3.2. Objetivos específicos.**

- ✓ Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según sexo
- ✓ Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según edad
- ✓ Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según frecuencia consumo de cigarrillos
- ✓ Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según tiempo de consumo de cigarrillos
- ✓ Estimar las diferencias entre la proporción de fumadores y no fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017

### **1.4. Justificación de la investigación.**

Justificación teórica: El recuento de micronúcleos proporciona información sobre el daño citogenético en las células de epitelio bucal, las cuales son blancos de carcinógenos humanos y desde la cual se desarrollarían diversos carcinomas, y además refleja la capacidad de respuesta del epitelio ante la exposición a diversos agentes, entre las cuales destaca los numerosos compuestos encontrados en el humo del cigarrillo.

Justificación práctica: El test de micronúcleos sirve como un indicador de riesgo de cáncer bucal, sobre todo en personas con exposición a agentes

carcinogénicos, siendo la población fumadora una de alto riesgo. En ese sentido, haber encontrado una asociación significativa entre tabaquismo y recuento de micronúcleos, solo refuerza la hipótesis que esta es un indicador de efecto importante dentro de los programas de monitoreo de cáncer bucal.

Justificación social: Dado que el recuento de micronúcleos es una técnica no invasiva y su procedimiento es rápido, sencillo y barato, su exploración como indicador biológico dentro de programas de vigilancia en poblaciones en riesgo resulta vital, ya que podría incluso aplicarse a lugares alejados, favoreciendo la identificación de casos en riesgo de forma masiva.

Justificación metodológica: Los hallazgos presentados han sido debidamente evaluados, utilizando un modelo multivariado, el cual permitió ajustar la medida de asociación (razón de prevalencia) a través de covariables que se comportaron como potenciales confusores; rompiendo con el clásico análisis bivariado usando tablas de contingencia; el cual genera sesgo de confusión, y por ende resultados y conclusiones erróneas.

#### **1.4.1. Importancia de la investigación.**

Considerando que el ensayo de micronúcleos se puede aplicar a las células exfoliadas de la mucosa oral humana, dicho dato será de vital importancia porque podría proporcionar información sobre el daño citogenético en los tejidos que son blancos de carcinógenos humanos y desde la cual se desarrollarían diversos carcinomas (12). La frecuencia de células micronucleadas refleja la capacidad de los tejidos diana para activar pro cancerígenos en presencia de especies reactivas, o para inactivarlos (6,12). Si mediante este ensayo, podemos saber cuál es el riesgo de presentar micronúcleos debido al hábito de fumar, en un modelo longitudinal como una cohorte prospectiva, podría ser una herramienta muy útil para valorar el riesgo final asociado a eventos carcinogénicos en el tejido que se esté

evaluando, sobre todo en poblaciones que socialmente tienen el hábito de fumar.

#### **1.4.2. Viabilidad de la investigación.**

La investigación fue viable considerando que la población de estudio estuvo a disponibilidad dentro de las instalaciones de la Universidad Alas peruanas donde se pudo captar a los participantes hasta completar la muestra estimada y sobre todo garantizando la aleatoriedad de esta.

En cuanto a la parte técnica, no se tuvo inconvenientes en el procesamiento y tinción de las muestras dado que se tuvo el apoyo de un médico patólogo clínico y un tecnólogo médico con experiencia en el tema.

#### **1.5. Limitaciones del estudio.**

- Que los resultados son extrapolables únicamente a estudiantes universitarios y no a la población en general considerando que las características sociales, educativas y económicas difieren de la población en general.
- El autoreporte no es una técnica que tenga alta veracidad, pero da una idea general de cuál es el comportamiento de las variables de estudio obtenidas en la ficha epidemiológica.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes de la investigación**

#### **2.1.1. Nacionales**

No se evidenciaron artículos originales publicados que hagan referencia a la asociación entre tabaquismo y recuento de micronúcleos, aun cuando esta técnica ha sido empleada para evidenciar daño genético en personas con exposición a otros agentes genotóxicos como formaldehído. Sin embargo, se muestran antecedentes que reflejan al tabaquismo como una problemática que se presenta en población universitaria. Los antecedentes encontrados se señalan a continuación:

Gómez D. (Lima, 2016) determinó la prevalencia del consumo de tabaco en los estudiantes universitarios de la Escuela de Medicina Humana. Realizó un estudio transversal, observacional y descriptivo. En él se incluyó a los estudiantes de la Escuela de Medicina Humana de la Universidad Científica del Sur. Se empleó el instrumento “Encuesta Mundial de Tabaquismo en Estudiantes de la Salud”. El link, generado mediante la plataforma Survey Monkey, fue distribuido a los correos electrónicos de los estudiantes. Además, se adjuntó el consentimiento informado. Sus resultados mostraron que la prevalencia de vida del tabaco fue del 75.2%, mientras que la prevalencia en el último mes fue del 41,7%. Además, de los fumadores, el 32,2% comenzó a fumar entre los 16 y 17 años, mientras que el 28,8% entre los 11 a 15 años. Una alta proporción de la población estuvo expuesta al humo del cigarro, el 37,1% en su propio hogar y el 64,7% en lugares distintos a su hogar. Por otro lado, el 94,1% está de acuerdo en prohibirse la venta de tabaco a los menores de 18 años y el 94,9% que se prohíba fumar en restaurantes. En adición, el 92,4% de los encuestados mencionan que el profesional de salud debe aconsejar o brindar información sobre el cese de fumar.

Finalmente, toda la población afirma haber recibido conocimientos, durante su formación, sobre las consecuencias del consumo de tabaco. Concluyó que los estudiantes de Medicina Humana poseen una prevalencia de vida alta. Además, a pesar haber adquirido conocimientos sobre los daños del consumo de tabaco, la prevalencia en el último mes es ligeramente inferior al 50% de la población (12).

Fernandini A. (Lima, 2011) determinó las características del consumo de tabaco en estudiantes de medicina durante el año 2004. Diseñó un estudio transversal descriptivo comparativo donde se encuestaron a 220 estudiantes de medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Perú. Se realizó una muestra estratificada por años de estudio desde el 1º al 6º año. Se elaboró un cuestionario de 69 preguntas que indagaba aspectos como el consumo de tabaco, conocimientos al mismo, actitudes hacia los fumadores y medios de prevención al mismo, las encuestas fueron colectadas tanto en la facultad como en las sedes donde se encuentran los estudiantes. Los resultados mostraron que la prevalencia de tabaquismo en estudiantes de medicina fue del 29.5% ( $p < 0.001$ ). El 80% de los estudiantes, alguna vez ha probado cigarrillos. El motivo más frecuente por lo cual empezó a fumar fue curiosidad. El 94.5% de los entrevistados estuvo a favor de que no se fume en lugares públicos. El 90.0% de los estudiantes indicó que fumar es dañino para la salud ( $p < 0,001$ ). Concluyó que la prevalencia de tabaquismo en estudiantes de medicina fue del 29.5%, La curiosidad fue el motivo más frecuente para iniciarse a fumar. La mayoría de los estudiantes de medicina estuvo de acuerdo de que no se fume en lugares públicos, también la mayoría indicó que fumar es dañino para la salud (13).

Rivera, C. (Lima, 2015) determinó el daño genotóxico en trabajadores expuestos a formaldehído de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana. Diseñó un estudio descriptivo transversal, evaluando Laboratorios de anatomía patológica del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Instituto Nacional de Enfermedades

Neoplásicas y Morgue Central de Lima y sus trabajadores de salud de laboratorios de anatomía patológica expuestos a formaldehído. Se evaluó el daño genotóxico local mediante test de micronúcleos y anormalidades nucleares en células epiteliales bucales y daño genotóxico sistémico mediante ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar de 42 trabajadores expuestos a formaldehído y 38 trabajadores no expuestos. Adicionalmente se midió la concentración de formaldehído en aire de cada laboratorio mediante método espectrofotométrico con ácido cromotrópico y se comparó con el valor límite permisible. Principales medidas de resultados: Daño genotóxico local y sistémico y concentración de formaldehído en aire. Los resultados mostraron una concentración media de 0.96 mg/m<sup>3</sup> de formaldehído en aire, superando el valor límite permisible (TLV-ceiling 0.37 mg/m<sup>3</sup>). Se encontró que los trabajadores expuestos a formaldehído presentaron mayor frecuencia de micronúcleos, gemaciones y binucleaciones en comparación con el grupo de no expuestos ( $p < 0.01$ ). No se encontró diferencias significativas en ninguno de los parámetros del ensayo cometa entre ambos grupos de estudio ( $p > 0.05$ ). Concluyó que los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica expuestos a formaldehído presentan daño genotóxico en el epitelio bucal. Estos resultados, junto con la presencia de altas concentraciones de formaldehído en el ambiente laboral y su naturaleza cancerígena, indican una situación de alto riesgo ocupacional, la cual debe ser atendida mediante la implementación de un programa de gestión de riesgos (15).

### **2.1.2. Internacionales**

Eker et al. (Turquía, 2016) evaluaron el efecto genotóxico del uso del hookah particular (es un tipo de pipa de agua de uso tradicional en Turquía). Recolectaron muestras de sangre periférica / frotis bucal de 30 sujetos que no fumaron cigarrillos pero que regularmente fuman un narguile en promedio de 2 veces por semana, y de 30 sujetos control que nunca habían fumado cigarrillos o un narguile. Se realizaron

análisis cromosómicos en las muestras obtenidas de sangre periférica de cada individuo, se contaron 25 placas de metafase para cada uno y se evaluaron los parámetros cromosoma / ruptura de cromatina / puente. El análisis de micronúcleos se realizó en muestras de frotis bucal y se investigaron los parámetros de micronúcleo / binucleación contando 2000 células de cada individuo. Los índices de rotura cromosómica fueron de  $0.64 \pm 0.86$  y  $0.46 \pm 0.71$  en los grupos de estudio y control, respectivamente, mientras que las relaciones de rotura de cromátidas fueron  $0.53 \pm 0.83$  y  $0.53 \pm 0.71$ ; las proporciones de fragmentos fueron  $0.82 \pm 1.24$  y  $0.21 \pm 0.49$  ( $p < 0.05$ ); y las relaciones de brecha fueron  $0.57 \pm 0.83$  y  $0.18 \pm 0.53$  ( $p < 0.05$ ), respectivamente. La relación de micronúcleos fue  $6.03 \pm 2.06$  y  $4.43 \pm 2.27$  ( $p < 0.05$ ) en los grupos de estudio y control, respectivamente, y las relaciones binucleares fueron  $8.53 \pm 3.23$  y  $12.15 \pm 5.18$ , respectivamente ( $p < 0.05$ ). Concluyeron que existen diferencias estadísticas significativas entre los individuos que fumaron narguile y aquellos que no lo hicieron en términos de fragmentos, brecha, micronúcleos y parámetros de binucleación, lo que sugiere que fumar un narguile puede causar efectos genotóxicos (16).

Nefic et al. (Bosnia, 2013) establecieron un valor de referencia de la frecuencia de micronúcleos en células bucales y para estimar el impacto de los factores más comunes (sexo y edad y tabaquismo) en el micronúcleo y frecuencias de alteración nuclear degenerativa en la muestra de sujetos sanos de Bosnia. Los resultados mostraron que la frecuencia basal de micronúcleos bucales era 0.135% o 1.35 ‰, también como correlaciones positivas entre frecuencias de micronúcleos y formaciones de alteraciones nucleares degenerativas (gemaciones nucleares, células carioplíticas y cariorreicas). El número de micronúcleos en las células bucales fue significativa mucho más alto en las mujeres que en los hombres. Hubo una asociación positiva entre la edad y la frecuencia de biomarcadores citogenéticos analizados. Los micronúcleos de células bucales y las alteraciones nucleares degenerativas más frecuente entre los fumadores de

cigarrillos que entre los no fumadores y significativamente más alta en las fumadoras que en fumadores masculinos. Los daños citogenéticos mostraron una correlación significativa positiva entre la intensidad de fumar y la cantidad de alteraciones nucleares. Los años de fumar tuvieron una influencia significativa no solo en el número de alteraciones nucleares pero también en micronúcleos y brotes nucleares en células bucales. Concluyeron que el sexo influye en la cantidad de micronúcleos en células bucales humanas. El tabaquismo aumenta significativamente las frecuencias de micronúcleos y brotes nucleares, células picnóticas, cariolíticas y cariorretinas (17).

Naderi et al. (India, 2012) evaluaron el ensayo de micronúcleo de las células de la mucosa bucal en fumadores que fumaron menos o más de 10 años. Realizaron una cohorte retrospectiva y evaluaron a fumadores que fueron divididos en dos grupos: el primer grupo incluyó individuos con un historial de tabaquismo menor a 10 años (14 muestras) y un segundo grupo con antecedentes de tabaquismo de más de 10 años (26 muestras). El grupo control consistió en no fumadores (23 muestras). Los resultados mostraron que el número medio de micronúcleos de células de mucosa bucal en no fumadores, primer grupo (antecedentes de tabaquismo de menos de 10 años) y segundo grupo (antecedentes de tabaquismo de más de 10 años) fue  $0,94 \pm 0,94$ ,  $1,89 \pm 0,62$  y  $2,01 \pm 0,93$  respectivamente. La diferencia fue estadísticamente significativa ( $P < 0.002$ ). Teniendo en cuenta el número de micronúcleos de las células de la mucosa bucal, la diferencia entre los grupos 1 y 2 no fue significativa ( $p < 0,6$ ). El porcentaje medio de células micronucleadas en no fumadores, grupo 1 y grupo 2 fue de  $2.26 \pm 2.17\%$ ,  $13.9 \pm 5.90$  y  $14.3 \pm 7.97$ , respectivamente. La diferencia fue estadísticamente significativa ( $P < 0.001$ ). La diferencia entre el porcentaje de células con micronúcleo en fumadores con antecedentes de tabaquismo de menos o más de 10 años no fue significativa ( $P < 0.6$ ). Concluyeron que el número promedio de micronúcleos en las células de la mucosa bucal de los no fumadores fue significativamente menor que el de los fumadores. Sin

embargo, el número medio de micronúcleos de células de la mucosa bucal en fumadores que fumaron durante más de 10 años fue mayor que en fumadores que fumaron menos de 10 años (18).

Nersesyan et al. (Austria, 2011) investigaron el impacto de los contenidos de alquitrán y nicotina de los cigarrillos en el daño cromosómico en las células de la mucosa oral de los fumadores. Controlamos el efecto de fumar diferentes tipos de cigarrillos (es decir, de filtro ultraligero, filtro de luz, filtro mediano y cigarrillos sin filtrar) en la inducción de anomalías nucleares, incluidos micronúcleos (MN), huevos rotos (BE), binucleados (BN), cromatina condensada (CC), cariorrexis (KR), cariólisis (KL) y picnosis (P) en células bucales exfoliadas. Las células se obtuvieron de 83 fumadores sanos y pesados ( $n = 15-25$  / grupo) que consumen una cantidad similar de cigarrillos (26-33) por día y de nunca fumadores como controles ( $n = 20$ ). Las frecuencias de KR, CC, KL, BE y BN aumentaron significativamente solo en fumadores de cigarrillos medios (MF) y no filtrados (NF) mientras que los niveles de MN solo fueron elevados ( $p < 0,0001$ ) en el grupo que fumó cigarrillos NF. Dado que BN y BE aumentaron ( $p < 00001$ ) como consecuencia de la exposición a niveles más bajos de componentes tóxicos en el tabaco, sugiere que estos puntos finales, que reflejan daños en el ADN, son más sensibles que MN, que es el único parámetro anotado en la mayoría de los estudios anteriores. La inducción de MN, BN, KR y KL aumentó significativamente con la exposición diaria al alquitrán y disminuyó simultáneamente con la absorción diaria de nicotina (en todos los casos,  $P$  fue  $< 0,0001$ ). Estos hallazgos también sugieren que la nicotina protege potencialmente a las células contra los carcinógenos reactivos con los ADN contenidos en el humo del tabaco, aunque anteriormente in vitro y los estudios en animales mostraron que el alcaloide induce el daño del ADN per se. Se encontró una correlación inversa significativa entre las frecuencias de los puntos finales tales como las células con MN (- 1.56), MN (-1.69), BN (-1.36), KR (-1.10) y KL (-1.87) con los niveles de nicotina en los cigarrillos (19).

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Epidemiología y fisiopatología del tabaquismo**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que actualmente hay 1.1 billones fumadores de tabaco en todo el mundo, que representan aproximadamente un tercio de la población total de 15 años de edad a más (20). La mayoría de estos fumadores se encuentran en países en desarrollo (800 millones) y la mayoría son hombres (700 millones). A nivel mundial, se estima que alrededor del 47% de los hombres y el 12% de las mujeres fuman. Las tasas de fumadores varían ampliamente entre las regiones y entre países dentro de la misma región.

A medida que aumenta el consumo de tabaco, generalmente hay un retraso de aproximadamente 30 a 40 años antes de un aumento resultante en la mortalidad relacionada con el tabaquismo (20). Actualmente, el consumo de tabaco causa un estimado de 3 millones de muertes anuales en todo el mundo, de los cuales 1,9 millones ocurren en países desarrollados (20). Aunque existe un aumento de la tasa de mortalidad relacionada con el tabaquismo en los países desarrollados, hay signos de desaceleración entre los hombres, y continúa aceleración entre las mujeres. Además, con la expansión masiva en las últimas décadas en el consumo de tabaco en los países en desarrollo, la mortalidad relacionada con el tabaquismo aumentará sustancialmente. Sin una acción concertada, se estima que el número de muertes en todo el mundo crecerá hasta 10 millones anuales para 2030, con el 70% de estos ocurriendo en países en desarrollo. Se ha pronosticado que el consumo de tabaco puede convertirse en la principal causa de muerte para el 2020, causando más de una de cada ocho muertes. Además, la mitad de todos los fumadores de por vida morirá prematuramente como resultado del consumo de tabaco (21).

En cuanto a la toxicología del tabaquismo, todos los productos de tabaco contienen nicotina, la cual es fácilmente absorbida en los

pulmones, boca y nariz. La nicotina del humo del tabaco se absorbe rápidamente a través de la circulación alveolar pulmonar y traspasa la barrera hematoencefálica dentro de los 10 a 20 segundos después de la inhalación (22). La nicotina es ampliamente reconocida como adictiva (23), hay una mayor proporción de usuarios ocasionales de tabaco con patrones de uso adictivo que los usuarios de cocaína, morfina o alcohol (24). De hecho, la dependencia del tabaco está clasificada como un trastorno mental y del comportamiento de acuerdo con la Clasificación Internacional de Enfermedades de la OMS, CIE-10 (25). Como una sustancia adictiva, la nicotina muestra un refuerzo positivo en el centro de recompensa del sistema nervioso central (26), que se refleja por el comportamiento compulsivo en búsqueda de drogas visto en algunos fumadores, y la aparición de un síndrome de abstinencia marcado por síntomas de abstinencia y ansias después cese de la exposición (27-29). La nicotina se une a los receptores nicotínicos colinérgicos en el cerebro, ganglios autonómicos y neuromusculares cruces, de los cuales los receptores neuronales centrales son más relevantes para el comportamiento del medicamento efectos (26). La activación del receptor nicotínico por la nicotina facilita la liberación de varios neurotransmisores, incluyendo acetilcolina, noradrenalina, dopamina, serotonina, beta-endorfina y gamma-aminobutírico ácido (GABA). De estos, la dopamina actúa a través de la vía dopaminérgica mesolímbica, la cual ha sido implicada en el refuerzo de los efectos sobre el comportamiento (30, 31). La exposición crónica o repetida a la nicotina conlleva a la sensibilización y promueve efectos sobre la liberación de dopamina (32, 33). Esta sensibilización de las vías mesolímbicas puede ser relevantes para desarrollo del comportamiento ansioso. Independientemente, la exposición crónica a la nicotina también causa la desensibilización del receptor nicotínico y regulación positiva compensatoria del receptor (es decir, un aumento en la densidad del receptor nicotínico), que puede limitar la tolerancia a los efectos psicofarmacológicos de nicotina (34).

Aunque la nicotina es una droga psicoestimulante, los fumadores pueden experimentar efectos relajantes y disminuir la tensión, así como una leve euforia y estado de alerta, concentración y función cognitiva. No está claro si las recompensas positivas de fumar (rendimiento mejorado y estado de ánimo) son debido a un efecto de mejora intrínseca de la nicotina o para aliviar los síntomas de abstinencia (26). Los síntomas de la abstinencia de nicotina incluyen ansiedad, depresión, dificultad para concentrarse, disforia, aumento del apetito, insomnio, irritabilidad, frustración, enojo, inquietud y frecuencia cardíaca. La mayoría de estos síntomas alcanzan su punto máximo dentro de las 48 horas posteriores al último cigarrillo y luego disminuye gradualmente en intensidad, pero algunos síntomas como el deseo de consumo de nicotina, aumento del apetito y la concentración deteriorada puede continuar por varios meses o años (35). Sin embargo, se piensa que algunos síntomas como los de abstinencia, no son efectos directos de nicotina. Como tal, la nicotina cumple con los criterios establecidos por la Asociación Americana de Psiquiatría en su Manual Diagnóstico de Trastornos Mentales de Salud (DSM-IV) para la definición de droga de dependencia (35).

### **2.2.2. Tabaquismo y formación de micronúcleos**

El significado literal de la palabra micronúcleo (MN) lo describe como un pequeño núcleo en una gran célula, o los núcleos más pequeños en las células que tienen dos o más tales estructuras. El MN está definido como una estructura microscópicamente visible, redonda u ovalada de cromatina citoplasmática junto al núcleo. El MN es el nombre dado al pequeño extra-núcleo que se forma cada vez que un cromosoma o un fragmento de un cromosoma no se incorpora en uno de los núcleos de la célula hija durante la célula división (36-39).

Los dos fenómenos básicos responsables de la formación de MN en células mitóticas son la disfunción del aparato mitótico y la rotura del cromosoma. Se forman micronúcleos de todos los cromosomas o

fragmentos de cromátidas que se retrasan en anafase y son separados de los núcleos de células hijas en la telofase. Además, algunos MN se originan de fragmentos derivados de puentes rotos de anafase debido a reordenamientos en el cromosoma tales como las cromátidas de cromosomas dicéntricos, anillos entremezclados o unión de cromátidas hermanas (40-43). En el curso de la telofase estas regiones cromosómicas están incluidas en células hijas donde pueden fusionarse con el principal núcleo o puede formar uno o más pequeños núcleos secundarios (43). Este núcleo secundario más pequeño se conoce como MN y su número puede variar de uno a muchos (44, 45).

Para evaluar los efectos / riesgos genotóxicos en los consumidores de tabaco en mucosa bucal, los daños del ADN pueden evaluarse mediante aberraciones cromosómicas, intercambios de cromátidas hermanas y pruebas de micronúcleos. De estos, la prueba de micronúcleos es más sensible que otras pruebas, ya que tampoco requiere procedimientos tediosos como el cultivo celular y la preparación de metafase, ni requiere ninguna tinción específica del ADN. Además, como es aplicable solo a la interfase, es el mejor indicador de interferencia mitótica y mutaciones o roturas cromosómicas. Es un procedimiento no invasivo y muy económico (46).

Las células bucales son la primera barrera para la vía de inhalación o ingestión y son capaces de metabolizar carcinógenos inmediatos a productos reactivos. Aproximadamente el 90% de los cánceres humanos se originan a partir de células epiteliales (47). Por lo tanto, podría argumentarse que las células epiteliales orales representan un sitio diana preferido para los eventos genotóxicos tempranos inducidos por agentes carcinogénicos que ingresan al cuerpo por inhalación e ingestión.

Los MN son inducidos en células exfoliadas orales por una variedad de sustancias, incluyendo agentes genotóxicos y compuestos

cancerígenos en tabaco, nuez de betel y alcohol. Se ha informado que las nitrosaminas específicas del tabaco son potentes agentes clastogénicos y mutagénicos que se cree que son responsables de la inducción de aberraciones cromátidas / cromosómicas que dan como resultado la producción de MN (48).

Es un hecho conocido que los hábitos como el uso de tabaco en diversas formas, el consumo de alcohol, y el uso de productos de panes comerciales están asociados con un mayor riesgo de desarrollo de cáncer oral. El efecto carcinogénico de los hábitos mencionados anteriormente puede estar relacionado con la inducción de efectos genotóxicos en las células de la mucosa oral. Las investigaciones sobre frecuencias de MN respaldan la suposición ampliamente aceptada de que el MN es un producto de eventos tempranos en procesos carcinogénicos humanos, especialmente en regiones orales, especialmente porque están prácticamente ausentes en la mucosa no expuesta (46). El ensayo de MN en células exfoliadas orales puede usarse como un marcador confiable simple para evaluar la genotoxicidad y el diagnóstico precoz de lesiones premalignas y malignas (49-50). En los últimos años, se han realizado estudios utilizando el ensayo de MN como indicador de daño genotóxico en fumadores (51-53).

### **2.3. Definición de términos básicos**

Las definiciones han sido extraídas según lo reportado en los descriptores en ciencias de la salud (DeSC-BIREME, enlace web: <http://decs.bvs.br/E/decs2017e.htm>) de la Biblioteca virtual de salud y Medical Subject Headings de la librería nacional de salud de los Estados Unidos (MESH-NBCI, web page: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>).

ADN: Sigla de ácido desoxirribonucleico, proteína compleja que se encuentra en el núcleo de las células y constituye el principal constituyente del material genético de los seres vivos.

**Aneugénico:** Propiedad de algunos agentes que impiden la fijación de las fibras del huso al cinetocoro y, por ende, el desplazamiento de cromosomas en anafase.

**Binucleación:** Se refiere al proceso en el cual una célula tiene dos núcleos, generalmente como parte de la mitosis y citocinesis celular, que da lugar al nacimiento de dos células hijas a partir de una progenitora.

**Clastogénico:** Propiedad de algunos agentes que inducen a la interrupción o rotura de cromosomas, lo que lleva a que secciones de cromosomas sean eliminadas, añadidas, o reorganizadas.

**Daño genético:** Se refiere al daño que sufre el material genético, el cual está representado por el ADN, el cual puede encontrarse en el núcleo celular y en las mitocondrias.

**Edad:** Es el tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.

**Fumador activo:** Es una persona que consume y algunas veces depende del tabaco, o simplemente fuma, habitualmente.

**Fumador pasivo:** Persona que no fuma pero que está sometida a los efectos nocivos del tabaco por aspirar el humo de las personas que fuman en su entorno.

**Gemación:** Desarrollo de una gema a partir de la estructura nuclear como producto de daño genotóxico.

**Genotóxico:** Propiedad de algunos agentes para causar daño al material genético por agentes físicos, químicos o biológicos; el daño en el material genético incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes celulares que se encuentran relacionados con la funcionalidad y comportamiento de los cromosomas dentro de la célula.

**Giemsa:** Es un colorante que se puede comprar listo para ser utilizado. Se utiliza para colorear más o menos rápidamente (según se utilice

Giensa rápido o Giensa lento) los cromosomas. Resulta de una mezcla de azul de metileno y eosina y tiene una coloración violeta, tirando hacia el rosa.

Marcador biológico: es aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico.

Micronúcleo: Es una masa de cromatina que aparecen en el citoplasma de la célula interfásica y son el resultado de fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros que no se han orientado correctamente en anafase.

Mutagénico: Propiedad de algunos agentes que alteran o cambian la información genética (usualmente ADN) de un organismo y ello incrementa la frecuencia de mutaciones por encima del nivel natural.

Nicotina: Sustancia que se extrae de las hojas del tabaco y que también se puede producir sintéticamente; es una droga tóxica que en pequeñas dosis produce euforia, disminución del apetito, etc., y que en dosis elevadas puede provocar graves intoxicaciones.

Puente nucleoplásmico: Es una estructura constituida de proteínas contráctiles que se forma entre la unión de dos células binucleadas.

Sexo: Es la condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.

Tabaco: es un producto agrícola procesado a partir de las hojas de *Nicotiana tabacum*. Se consume de varias formas, siendo la principal por combustión produciendo humo.

Tabaquismo: Está referido a la práctica de fumar o consumir tabaco en sus diferentes formas y posibilidades.

## CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 3.1. Formulación de hipótesis

#### 3.1.1. Hipótesis general

H1: El recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal está asociado al tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017

#### 3.1.2. Hipótesis específicas

- ✓ El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente entre varones y mujeres
- ✓ El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente según grupos etarios
- ✓ El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente según el consumo de cigarrillos
- ✓ El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente según el tiempo de consumo de cigarrillos
- ✓ La proporción de fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado es diferente a la proporción de no fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017

### 3.2. Variables de estudio

#### Dependiente

- Recuento de micronúcleos

#### Independiente

- Tabaquismo
- Número de cigarrillos consumidos

- Tiempo como fumador

Interviniente

- Sexo
- Edad

### 3.2.1. Operacionalización de variables.

De acuerdo al estudio planteado y a la identificación de las variables, para cada una de éstas se han determinado sus indicadores. A continuación, se muestra el cuadro de operacionalización de las variables de estudio:

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	VALOR FINAL	ESCALA	TECN. E INSTRUM.
Recuento de micronúcleos	Conteo de micronúcleos en 2000 células de epitelio bucal (microscopía a 100X).	Número total de micronúcleos	....MNs / 2000 cél.	Numérica discreta	Microscopía de luz visible en inmersión
Tabaquismo	Cualquier forma de consumo de cigarrillos	Ausencia o presencia de la condición	No (0), Si (1)	Dicotómica	Ficha de recolección de datos
Número de cigarrillos consumidos	Cantidad promedio de cigarrillos consumidos por semana	Número de cigarrillos	....cigarrillos / semana	Numérica discreta	
Tiempo como fumador	Número de meses consumiendo cigarrillos	Número de meses	....meses	Numérica discreta	
Edad	Diferencia entre la fecha de nacimiento y la evaluación del individuo, expresada en años	Número de años	....años	Numérica discreta	
Sexo	Característica biológica y fenotípica evaluada por el entrevistador	Según condición biológica/fenotípica	Varón (0), Mujer (1)	Dicotómica	

## **CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA**

### **4.1. Diseño metodológico.**

#### **4.1.1. Tipo de investigación.**

Según la clasificación de investigaciones propuesta por los profesores de la Universidad John Hopkins de los Estados Unidos, Moisés Szklo y Javier Nieto en su libro: Epidemiología intermedia (54), la presente tesis se clasifica según:

- Según la manipulación de la variable  
Estudio Observacional: ya que no habrá manipulación de las variables independientes (tabaquismo, entre otras), sino solo la observación de su comportamiento y como están podrían estar afectando a la variable dependiente (recuento de micronúcleos).
  
- Según la fuente de toma de datos  
Prospectivo: Ya que la obtención de los datos será de carácter progresivo a partir de la obtención del consentimiento informado de los participantes del estudio. No habrá colección de datos históricos o registros antiguos.
  
- Según el número de mediciones  
Transversal: ya que las mediciones de las variables independientes y dependiente del fueron colectadas en un solo momento del tiempo.
  
- Según el número de variables a analizar  
Analítica: ya que el estudio tiene como propósito estimar una asociación de tipo causal, para el cual es necesario el planteamiento de hipótesis que esperan ser contrastadas estadísticamente para inferir los resultados a la población de estudio.

#### 4.1.2. Diseño de investigación

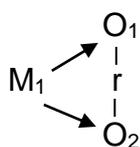
El diseño del estudio es cuantitativo, dado que el abordaje estadístico sobre el comportamiento de las variables requiere un análisis probabilístico en modelos bivariados y multivariados, y como es conocido, la teoría de las probabilidades se encuentra basada en modelos matemáticos que requieren el análisis de números, por ende, de variables que tengan un comportamiento cuantitativo.

#### 4.1.3. Nivel de investigación

Explicativa: Ya que se busca establecer si existe asociación significativa entre la variable dependiente e independiente principal, ajustada por las covariables, de tal modo que se estime una aproximación hacia una relación de tipo causal.

#### 4.1.4. Método

El presente trabajo de investigación es de carácter analítico que sigue un método con aproximación a una relación de causalidad a través de una medida de asociación entre dos variables, ya que permitió conocer la totalidad de los hechos y fenómenos de la realidad estableciendo sus semejanzas y diferencias en forma asociativa, de tal modo que nos permitió lógicamente aceptar la hipótesis planteada. El esquema del estudio es el siguiente:



M: Muestra  
O: Observación de las variables  
r: Relación

### 4.2. Diseño muestral, matriz de consistencia

#### 4.2.1. Población

Estuvo constituida por estudiantes de la Escuela Profesional de Tecnología Médica de la Universidad Alas Peruanas Filial Ica, los cuales ascendieron a 270.

**Criterio de Inclusión:**

- Estudiantes varones o mujeres que pertenezcan a EPTM-UAP Ica
- Edad indistinta

**Criterio de Exclusión:**

- Presencia de lesiones en cavidad bucal
- Estar recibiendo tratamiento quimioterápico
- Haber estado expuesto a rayos X durante los últimos 30 días

**4.2.2. Determinación del tamaño de la muestra:**

Se realizó un muestreo probabilístico aleatorio simple basado en intervalos de confianza, considerándose los siguientes datos:

Tamaño de la población:	270
*Proporción esperada:	20,000%
Nivel de confianza:	95,0%
Efecto de diseño:	1,0

\*Proporción esperada de fumadores que desarrollan recuento elevado de micronúcleos, según lo reportado en la referencia 16 (Eker et al, 2016).

Considerando una precisión de 5%, se obtiene el siguiente tamaño de muestra:

Precisión (%):	5,000
Tamaño de la muestra:	129

Realizando el cálculo manual, fue del siguiente modo:

$$n = \frac{Z^2 \times N \times P \times Q}{E^2(N - 1) + Z^2 \times P \times Q}$$

$$n = \frac{1.96^2 \times 270 \times 0.20 \times 0.80}{0.05^2 \times (270-1) + 1.96^2 \times 0.20 \times 0.80} = \frac{165.96}{1.2872} = 128.9 = 129$$

#### **4.2.3. Elección de los miembros de la muestra**

La selección de la muestra para el estudio fue por asignación de números aleatorios (garantizando el anonimato de estos) de la EPTM-UAP de tal modo que se invitará a aquellos que tengan un número aleatorio asignado con el programa Epidat v.3.2. En el caso de no aceptar participar en el estudio, se seleccionó al número aleatorio próximo. La aleatorización garantiza que todos los estudiantes de la EPTM-UAP Ica tengan la misma probabilidad de ser seleccionados como participantes del estudio, de tal modo que los resultados son inferibles a la población de estudio.

#### **4.2.4. Matriz de consistencia.**

Para esta información Ver anexo 01

### **4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

#### **4.3.1. Técnicas.**

La encuesta: la obtención de datos se empleó una ficha de recolección de datos la cual fue administrada por un encuestador previamente capacitado en su llenado, y el cual no conocía los objetivos del estudio, para garantizar su cegamiento (estudio a ciego simple).

La Observación: esta técnica fue de suma importancia al momento de realizar la revisión de la colección de muestras biológicas y su procesamiento en el laboratorio, hasta la obtención de resultados finales.

#### **4.3.2. Instrumentos.**

Ficha epidemiológica. Se elaboró una ficha orientada a la obtención de datos demográficos, número, tiempo y consumo de cigarrillos. Para más detalles, ver el anexo 04

Toma de muestras biológicas. Se obtuvieron muestras de hisopado bucal que fueron resuspendidas en suero fisiológico, para luego ser fijadas en líquido de Carnoy (fijador elaborado de la mezcla de metanol y ácido acético en proporción de 3:1) hasta su procesamiento. La toma de muestras se realizó según las recomendaciones establecidas por Holand et al (46) Para más detalles, ver el anexo 05

Recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal. Se empleo el procedimiento recomendado por Holand et al (46). Las células obtenidas por hisopado bucal fueron fijadas en Carnoy y sometidas a 3 lavados consecutivos, previa centrifugación a 1200 rpm por 10 minutos. Se realizo preparados en láminas portaobjetos limpios con alcohol absoluto y secados al aire. Las células fueron teñidas con Giemsa para su posterior recuento de 2000 células epiteliales en un microscopio de luz visible a 100X. Para más detalles, ver el anexo 06

#### **4.3.3. Criterios de validez y confiabilidad de los instrumentos.**

La ficha de recolección de datos fue sometida a un análisis de confiabilidad, mediante el alfa de Cronbach, cuyo valor fue de 0.97. Además, para garantizar reproducibilidad de resultados, se prepararon láminas por triplicado que fueron leídas microscópicamente cuyo reporte fue en función al promedio obtenido, el coeficiente de variación fue de 8.3% (valor umbral permisible para ensayos de conteo celular). Finalmente, las observaciones fueron corroboradas por un Tecnólogo Médico con experiencia en la lectura de micronúcleos y que ya tiene referencias publicadas en las revistas nacionales indizadas a Scielo Perú, y referenciadas en los numerales 13, 14 de la bibliografía y por un médico patólogo clínico.

#### **4.4. Técnicas del procesamiento de la información.**

Los datos del recuento de micronúcleos fueron expresados en número total de células por 2000 células observadas y se ingresaron a un formulario para el registro inequívoco de los mismos. Además, se realizó toma fotográfica de

los métodos empleados, así como campos microscópicos, a fin de tener imágenes que respalden los hallazgos generados. Se realizó el análisis estadístico empleando las pruebas de contraste de hipótesis a fin de estimar si existen diferencias significativas entre los resultados. Los resultados numéricos fueron ingresados tal cual se obtuvieron. Finalmente, la información fue ingresada en el paquete estadístico STATA versión 12, en columna las variables y en filas los casos con el propósito de consolidar y totalizar en cifras a los resultados obtenidos, y generar información a través de los valores representativos y de estas el conocimiento para facilitar su posterior análisis e interpretación.

#### **4.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información.**

La base datos construida en microsofott Excel 2012, fue exportada al paquete estadística STATA versión 14, la cual permitió realizar los siguientes análisis: la parte descriptiva que caracterizo a la población de estudio en función a las medidas de tendencia central, dispersión y distribución; así como el empleo de frecuencias absolutas y relativas. Para el cálculo de la medida de asociación, se utilizó el modelo de regresión de poisson en forma bivariada (para obtener las razones de prevalencia entre recuento de micronúcleos vs cada variable independiente) y multivariada (para obtener razones de prevalencia entre recuento de micronúcleos vs tabaquismo, ajustada por el resto de covariables). Para garantizar los resultados de la regresión, se verifico el supuesto de sobre dispersión ( $\text{media}=\text{varianza}$ ) mediante la prueba post hoc de bondad de ajuste.

#### **4.6. Aspectos éticos contemplados.**

Ya que se evaluaron personas y se obtuvieron muestras biológicas, se requirió la obtención del consentimiento informado, previa sensibilización del paciente. El manejo de los datos fue en función al cumplimiento de los principios bioéticos de investigación: beneficencia, no maleficencia, equidad y justicia. Además, toda la información fue manipulada con estricta confidencialidad y solo de acceso exclusivo a la tesista responsable. Ver anexo 3

## CAPÍTULO V: ANÁLISIS, DISCUSIÓN

La tesis tuvo por objetivo evaluar la asociación entre recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP de Ica. Por ende, los datos generados se presentan en 3 secciones: análisis descriptivo, bivariado y multivariado.

### 5.1. Análisis descriptivo.

Se evaluaron 129 estudiantes que fueron seleccionados aleatoriamente, cuyas características descriptivas se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Características descriptivas de las variables de estudio

Variable	N	%
Edad (x ± de)	24.9 ± 5.4	
Sexo		
Varón	54	41.9
Mujer	75	58.1
Tabaquismo		
No	96	74.4
Si	33	25.6
N° cigarrillos consumidos/sem (x ± de)	5.9 ± 5.3	
Tiempo como fumador en meses (x ± de)	54.8 ± 43.8	
Recuento de micronúcleos/2000 cél (x ± de)	1.4 ± 2.2	
Recuento de binucleaciones/2000 cél (x ± de)	2.9 ± 1.8	

(Fuente: Ramos L., 2017)

x: promedio; de: desviación estándar

Sin embargo, la distribución de los datos para las variables relacionadas a la cantidad y tiempo como fumador fueron muy dispersas, habiendo casos de estudiantes que incluso señalaron fumar hasta 14 cigarrillos por semana; así como otros señalaron ser fumadores hasta por 156 meses (13 años). Del mismo modo, se encontraron recuentos de MN de hasta 10 por cada 2000 células evaluadas.

## 5.2. Análisis inferencial.

### Análisis bivariado.

Dado que las variables numéricas del estudio no presentaron distribución normal (evaluado por el análisis de la curtosis coeficiente de asimetría y análisis probabilístico con la prueba de Shapiro-Wilk) el análisis bivariado incluyó el uso de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, cuyos resultados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Análisis bivariado entre recuento de micronúcleos y variables independientes

Variable independiente	Recuento de micronúcleos		p-valor*
	$\bar{x} \pm de$	min - max	
Sexo			
Varón	1.5 $\pm$ 2.2	0 – 7	0.407
Mujer	1.3 $\pm$ 2.2	0 – 10	
Grupo etario			
$\leq$ 24 años	1.2 $\pm$ 2.2	0 – 7	0.167
$>$ 24 años	1.5 $\pm$ 2.1	0 – 10	
Tabaquismo			
No	0.5 $\pm$ 1.2	0 – 5	0.000
Si	3.9 $\pm$ 2.4	0 – 10	
Nº cigarrillos fumados/sem			
$\leq$ 4 cig/sem	3.6 $\pm$ 2.7	0 – 10	0.295
$>$ 4 cig/sem	4.2 $\pm$ 2.0	1 – 7	
Tiempo como fumador			
$\leq$ 36 meses	3.3 $\pm$ 2.7	0 – 10	0.123
$>$ 36 meses	4.5 $\pm$ 1.9	1 – 7	

(Fuente: Ramos L., 2017)

\*p-valor estimado a partir de la prueba de Mann-Whitney

Se observa que el tabaquismo fue la única variable que generó medianas con diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) en el recuento de micronúcleos. El resto de las variables tuvieron medianas similares según las categorías de cada una de ellas.

### 5.3. Técnicas estadísticas empleadas

#### Análisis multivariado

Tomando en cuenta que el recuento de micronúcleos es una variable de conteo, se utilizó el modelo de regresión de Poisson para evaluar la asociación existente entre ella y la variable tabaquismo, ajustada por el resto de las variables independientes. Los datos fueron evaluados según el cumplimiento de la distribución de Poisson (mediante el análisis de la devianza) y descartado con el análisis de regresión binomial negativa. La tabla 3 muestra la asociación entre el recuento de MN como variable de conteo y el tabaquismo, ajustado por confusores como edad y sexo.

Tabla 3. Factores independientemente asociados al recuento de micronúcleos (como variable numérica) en células de epitelio bucal

Variables	Análisis bivariado			Análisis multivariado*		
	Coef	IC 95%	p	Coef	IC 95%	p
<b>Sexo</b>						
Varón	Ref.			Ref.		
Mujer	-0.152	-0.701-0.396	0.586	-0.160	-0.611-0.292	0.488
<b>Grupo etario</b>						
≤ 24 años	Ref.			Ref.		
> 24 años	0.191	-0.359-0.741	0.496	0.489	0.065-0.913	0.024
<b>Tabaquismo</b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	2.059	1.529-2.589	0.000	2.122	1.617-2.627	0.000
<b>N° cig. fumados/sem</b>						
≤ 4 cig/sem	Ref.			---	---	---
>4 cig/sem	0.151	-0.262-0.564	0.474	---	---	---
<b>Tiempo como fumador</b>						
≤ 36 meses	Ref.			---	---	---
> 36 meses	0.276	-0.141-0.693	0.195	---	---	---

(Fuente: Ramos L., 2017)

\*Modelo de regresión de Poisson para una variable de conteo ajustado por tabaquismo, sexo y grupo etario. El tiempo como fumador y el número de cigarrillos consumidos no ingresaron al modelo multivariado, considerando que presentaron colinealidad a la presencia de tabaquismo.

Se observa que el promedio de MN es 2.12 MN/2000 células en estudiantes con tabaquismo, ajustado por edad y sexo, con un valor significativo ( $p < 0.001$ ) y un intervalo de confianza al 95% de 1.62 a 2.63 MN/2000 cel.

El modelo de regresión de Poisson también sirvió para estimar las razones de prevalencia, considerando al recuento de MN como variable dicotómica (el cual fue convertido según el valor más próximo al promedio, el cual fue de 2). La tabla 4 muestra el análisis multivariado entre recuento de MN y tabaquismo, ajustado por el resto de las variables independientes.

Tabla 4. Asociación entre tabaquismo y recuento de micronúcleos (como variable dicotómica) en células de epitelio bucal

Variables	Análisis bivariado			Análisis multivariado*		
	RP**	IC 95%	p	RP**	IC 95%	p
<b>Sexo</b>						
Varón	Ref.			Ref.		
Mujer	0.86	0.64-1.16	0.316	0.95	0.47-1.94	0.896
<b>Grupo etario</b>						
≤ 24 años	Ref.			Ref.		
> 24 años	1.21	0.90-1.63	0.207	1.66	0.82-3.38	0.160
<b>Tabaquismo</b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	7.84	5.61-10.95	0.000	9.70	4.35-21.61	0.000
<b>Nº cig. fumados/sem</b>						
≤ 4 cig/sem	Ref.			---	---	---
>4 cig/sem	1.16	0.82-1.64	0.393	---	---	---
<b>Tiempo como fumador</b>						
≤ 36 meses	Ref.			---	---	---
> 36 meses	1.32	0.93-1.86	0.119	---	---	---

(Fuente: Ramos L., 2017)

\*Modelo de regresión de Poisson para una variable dicotómica ajustado por tabaquismo, sexo y grupo etario. El tiempo como fumador y el número de cigarrillos consumidos no ingresaron al modelo multivariado, considerando que presentaron colinealidad a la presencia de tabaquismo.

\*\*RP: Razón de prevalencia

Tanto el modelo bivariado como multivariado evidenciaron asociación significativa entre recuento de MN y tabaquismo. Se observa que los estudiantes con tabaquismo presentaron 9.7 veces más riesgo de tener más de 2 MN/2000 células, ajustado por edad y sexo, y con un valor significativo ( $p < 0.001$ ) y un intervalo de confianza al 95% de 4.4 a 21.6.

## **5.4. Discusión, conclusión y recomendaciones.**

### **5.4.1. Discusión.**

La formación de MN es producto de rupturas en los cromosomas o una mala migración de ellos durante anafase, la cual se evidencia como MN en una célula en interfase (43, 44). Sin embargo, a este proceso antecede el daño al material genético representado por el ADN, y en ese sentido la mayoría de los compuestos que constituyen a los cigarrillos, tienen propiedades genotóxicas (20). En ese sentido, el uso de los MN como marcadores biológicos que permiten estimar el riesgo de desarrollar enfermedades carcinogénicas, considerando que está tiene como antecedentes a procesos previos como la mutagenicidad y genotoxicidad; resulta de vital importancia dentro de los programas de vigilancia molecular en poblaciones en riesgo (46). El cáncer en cavidad bucal (2, 3) es uno que viene en incremento, debido al consumo del tabaco particularmente, y su detección generalmente se realiza en estadios intermedios y avanzados de la enfermedad; en ese sentido el uso de los MN podría ser útil al momento de realizar pruebas de screening en poblaciones de riesgo (50, 51).

El recuento de MN en estudiantes no fumadores fue de  $0.5 \pm 1.2$ ; mientras que en estudiantes fumadores de  $3.9 \pm 2.4$ ; encontrándose diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ), un hallazgo que también ha sido reportado por Eker et al (16) quienes reportaron recuentos de MN en fumadores de  $6.03 \pm 2.06$  y no fumadores de  $4.43 \pm 2.27$ , con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Naderi et al (18). Nuestros resultados evidencian que el sexo y la edad no generan influencias significativas en el aumento de MN de células bucales; aun cuando

Nefic et al (17) evidenciaron que el sexo de los evaluados si generó influencia significativa en el recuento de MN. Por otro lado, nuestros análisis bivariados evidenciaron que el tabaquismo si genera una influencia significativa, la cual fue también evidenciada en el modelo multivariado utilizando la regresión de Poisson, tanto considerando al recuento de MN en su forma numérica como categórica. Así mismo, es importante señalar que el tiempo como fumador y el número de cigarrillos fumados por semana, no fueron evaluados en el modelo multivariado porque son variables colineales al tabaquismo; pero que sin embargo presentaron correlación moderada ( $Rho=0.425$ ) y baja ( $0.243$ ) al recuento de micronúcleos, respectivamente. EL tabaquismo es un factor importante en nuestro estudio que genera aumento en el riesgo de tener recuentos de MN elevados; incluso en el modelo ajustado por confusores, el valor de la razón de prevalencia aumento de 7.84 a 9.70; o sea podemos afirmar que los estudiantes fumadores en la población de estudio presentan 10 veces más riesgo significativo de tener recuento de MN elevados, en comparación con estudiantes no fumadores. A pesar de no haberse incluido al modelo multivariado el número de cigarrillos consumidos por semana y el tiempo como fumador, estas presentaron asociación (aunque no significativa) al recuento elevado de MN. Se observó que los estudiantes que fuman más de 4 cigarrillos por semana tienen 16% mas riesgo de tener recuento elevado de MN en comparación a estudiantes que fuman menos de 4 cigarrillos por semana. Del mismo modo, se evidenció en cuanto al tiempo como fumador.

Un hallazgo descriptivo que llama la atención es la proporción de estudiantes que señalaron ser fumadores activos. Se encontró que 1 de cada 4 estudiantes, era fumador activo; una cifra que se encuentra por debajo de otros estudios que reportan tabaquismo en población universitaria. Por ejemplo, un estudio de la Universidad Científica del Sur en Lima reportó una prevalencia de tabaquismo de 75.2% (12), cifra muy parecida a la reportada por la liga peruana de lucha contra el cáncer. Sin embargo, otro estudio de tesis en la Universidad Nacional

Mayor de San Marcos reportó una prevalencia de tabaquismo de 29.5% (13). Lo que indica que el tabaquismo es un hábito que se encuentra fuertemente ligado al componente social económico del estudiante. Este dato es importante, porque permite identificar poblaciones en riesgo rápidamente, en quienes debería implementarse activamente programas de prevención primaria con pruebas de despistaje para la identificación de lesiones orales, así como actividades de educación sanitaria.

Otro dato importante a mencionar es el recuento de células con binucleación, que, para el caso de las células de epitelio bucal, no tienen relevancia, dado que el proceso de proliferación y muerte celular es muy activa. Sin embargo, se reportaron sus recuentos y aunque no se presentan sus resultados en forma bivariada y en relación al tabaquismo, si se comprobó estadísticamente que había diferencias significativas en el recuento de binucleaciones entre fumadores y no fumadores.

Basado en los modelos predictivos para estimar enfermedades neoplásicas en cavidad oral, el tabaquismo a largo plazo junto a otros factores de riesgo puede desencadenar serias lesiones orales que incluso pueden extenderse a otros órganos generando cuadros metastásicos (54); razón por la cual el reconocimiento temprano de las lesiones resulta fundamental dentro de un programa de vigilancia en poblaciones en riesgo.

Sin embargo, dado que la formación de Mn está supeditada a la exposición a compuestos genotóxicos, una de las limitaciones del estudio resulta en la imposibilidad de identificar todos los factores de riesgo que un estudiante puede tener; aunque por esa razón se excluyeron los factores más influyentes, como la exposición a radiaciones ionizantes (rayos X), o consumo de fármacos antineoplásicos o aquellos que ya presenten alguna lesión en cavidad oral.

Finalmente, se puede decir que el tabaquismo es un factor de riesgo significativo en el desarrollo y formación de MN, sobre todo en individuos que inician desde edades tempranas el hábito de fumar.

#### **5.4.2. Conclusión**

- El recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal está asociado significativamente al tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017
- El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es igual entre varones y mujeres
- El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es igual según grupos etarios
- El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es igual según el consumo de cigarrillos
- El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es igual según el tiempo de consumo de cigarrillos
- La proporción de fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado es diferente a la proporción de no fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017

### 5.4.3. Recomendaciones

- El recuento de micronúcleos puede ser utilizado como un excelente predictor de lesiones neoplásicas en cavidad bucal, sobre todo cuando el individuo es fumador activo; sin embargo, debe buscarse la validación diagnóstica de la prueba de micronúcleos tomando como referencia una prueba anatómo patológica.
- Ya que la edad y el sexo no representaron factores importantes en el desarrollo de micronúcleos, no es necesario establecer rangos de normalidad para el recuento de micronúcleos, aunque sería interesante ampliar el estudio a una población con más diversidad, considerando que los estudiantes universitarios en su mayoría son personas entre 20 y 30 años.
- Dado que se ha establecido un recuento basal en un grupo de estudiantes seleccionados aleatoriamente, podría sub seleccionarse a aquellos que tuvieron recuentos elevados de micronúcleos y monitorearlos a fin del año 2018 y establecer una cohorte prospectiva buscando un desenlace de interés (por ejemplo, la duplicación del recuento de micronúcleos en el tiempo, o alguna lesión en cavidad bucal).

## ANEXO 1: MATRÍZ DE CONSISTENCIA

TITULO: ASOCIACIÓN ENTRE EL RECUENTO DE MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS DE EPITELIO BUCAL Y TABAQUISMO EN ESTUDIANTES DE LA EPTM-UAP ICA, DICIEMBRE 2017

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	INSTRUMENTOS
<p><b>General:</b> ¿Existe asociación entre el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017?</p> <p><b>Específico:</b> ¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según sexo?</p> <p>¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según edad?</p> <p>¿Cuál es el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según frecuencia consumo de cigarrillos?</p> <p>¿Cuál es el recuento de</p>	<p><b>General:</b> Evaluar la asociación entre recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017</p> <p><b>Específico:</b> Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según sexo</p> <p>Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según edad</p> <p>Estimar las diferencias entre el recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según frecuencia consumo de cigarrillos</p> <p>Estimar las diferencias entre el</p>	<p><b>General:</b> El recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal está asociado al tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017</p> <p><b>Específico:</b> El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente entre varones y mujeres</p> <p>El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente según grupos etarios</p> <p>El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente según el consumo de cigarrillos</p> <p>El recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 es diferente según el tiempo de consumo de cigarrillos</p> <p>La proporción de fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado es diferente a la proporción de no</p>	<p><u>Dependiente</u> Recuento de micronúcleos</p> <p><u>Independiente</u> Tabaquismo</p> <p>Número de cigarrillos consumidos</p> <p>Tiempo como fumador</p> <p><u>Interviniente</u> Sexo</p> <p>Edad</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p>

<p>micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según tiempo de consumo de cigarrillos?</p> <p>¿Cuál es la proporción de fumadores y no fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017?</p>	<p>recuento de micronúcleos de células de epitelio bucal de estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017 según tiempo de consumo de cigarrillos</p> <p>Estimar las diferencias entre la proporción de fumadores y no fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017</p>	<p>fumadores que presentan recuento de micronúcleos elevado en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Diciembre 2017</p>		
--	---	---	--	--

## ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO

A Usted se le está solicitando participar en este estudio. Antes que decida participar usted necesita tener información para que decida su participación voluntaria en el mismo.

### PROPÓSITO DEL ESTUDIO

El objetivo del estudio a realizar es determinar cuál es la frecuencia de micronúcleos en células de estudiantes de la UAP Ica

### PROCEDIMIENTOS:

Para determinar la frecuencia de micronúcleos en células bucales se colectará estas células mediante raspados con hisopos de algodón en el interior de la mejilla del participante. Estas muestras serán extendidas en dos láminas portaobjetos por muestra, las cuales serán fijadas y coloreadas para la observación microscópica a 100 X.

### POSIBLES BENEFICIOS:

La frecuencia de micronúcleos es un marcador de efecto por exposición a sustancias nocivas para el organismo por lo que su determinación será útil para evaluar el riesgo de la salud del estudiante debido al hábito de fumar; de este modo se podrá adoptar medidas de prevención para evitar la manifestación de enfermedad a largo plazo.

### POSIBLES RIESGOS / MOLESTIAS:

La obtención de las muestras biológicas (hisopados bucales) son a través del uso de métodos NO invasivos y que no provocarán molestia alguna; por lo que el riesgo a la salud por participar en el presente estudio es mínimo.

### PRIVACIDAD

Cada participante tendrá un código con el que podrá acceder a sus resultados de manera confidencial; únicamente el encargado de realizar este estudio tendrá conocimiento de los datos obtenidos del test de micronúcleos.

### PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Para que pueda participar de este estudio es necesario que Usted nos de su consentimiento informado de manera voluntaria para poder realizar el procedimiento completo. Usted es quien decide su participación. Si Usted decide retirarse del estudio antes de la toma de muestra, podrá hacerlo; pero no accederá a los resultados posteriores.

### INVESTIGADORES RESPONSABLES

Para más información de los procedimientos y técnicas empleadas en este estudio, Usted puede contactarse con el responsable de la intervención, a través de la EAP de Tecnología Médica de la UAP Filial Ica:

Lissette Ramos Martínez:

[lissegrm@gmail.com](mailto:lissegrm@gmail.com)

### III) FIRMAS

Si usted voluntariamente está de acuerdo en participar en este estudio es necesario su firma en este documento, en presencia de un testigo.

NOMBRE:.....

\_\_\_\_\_  
FIRMA

TESTIGO:.....

\_\_\_\_\_

FIRMA

**DECLARACION DEL INVESTIGADOR.**

*Yo certifico que este estudio ha sido explicado al paciente arriba indicado, quién ha comprendido el propósito del mismo, los posibles riesgos y beneficios y que en el momento que lo desee puede comunicarse conmigo.*

NOMBRE:.....

\_\_\_\_\_

FIRMA

FECHA:

CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN

### ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

<b>CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN</b>			
<b>LUGAR Y FECHA DE ENTREVISTA</b>			
<b>ENTREVISTADOR</b>			
<b>I. Datos del seleccionado</b>			
Edad (años y meses)		Sexo	Varón (0), Mujer (1)
Escuela		Especialidad	
<b>II. Hábitos sociales</b>			
¿Fuma?	1.Si ( ) 2.No ( )	¿Cuántos cigarrillos/día?	
¿Cuánto tiempo lleva fumando? (años y meses)		¿Has dejado de fumar alguna vez?	1.Si ( ) 2.No ( )
¿Consume alcohol?	1.Si ( ) 2.No ( )	¿Cuál es la frecuencia? (veces por semana)	

## ANEXO 4: FICHA DE VALIDACIÓN DE JUICIO DE EXPERTOS

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN  
JUICIO DE EXPERTOS**

**I. DATOS GENERALES**

1.1 APELLIDOS Y NOMBRES : *Ajalorúa Hernández José Félix*

1.2 GRADO ACADÉMICO : *Biologo*

1.3 INSTITUCIÓN QUE LABORA : *Essalud*

1.4 TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN : *Asociación entre el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Dic. 2017*

1.5 NOMBRE DEL INSTRUMENTO : *Ficha de recolección de datos*

1.6 CRITERIOS DE APLICACIÓN :

a) De 01 a 09: (No valido, reformular)      b) De 10 a 12 (No valido, modificar)

c) De 12 a 15: (Valido, modificar)            d) De 15 a 18 (Valido, precisar)

e) De 18 a 20: (Valido, aplicar)

**II. ASPECTOS A EVALUAR:**

INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO	CRITERIOS CUALITATIVOS CUANTITATIVOS	Deficiente (01 - 09)	Regular (10 - 12)	Bueno (12 - 15)	Muy Bueno (15 - 18)	Excelente (18 - 20)
		01	02	03	04	05
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje apropiado					18
2. OBJETIVIDAD	Esta expresado con conductas observables				16	
3. ACTUALIDAD	Adecuado con el avance de la ciencia y tecnología				17	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización y lógica					18
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en cantidad y calidad				17	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar los aspectos de estudio					20
7. CONSISTENCIA	Basado en el aspecto teórico científico y del tema de estudio					20
8. COHERENCIA	Entre las variables, dimensiones y variables.					19
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					19
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas para la investigación y construcción de teorías				17	
Sub Total						
Total						

VALIDACIÓN CUANTITATIVA (total x 0.4) : .....

VALORACIÓN CUALITATIVA : .....

OPINIÓN DE APLICABILIDAD : .....

.....  
**BLGO JOSE F. AJALORÚA HERNÁNDEZ**  
CIP 1543  
SERV. DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA  
HOSPITAL GENERAL DE HERNÁNDEZ WERBOZA  
RED ASISTENCIAL ICA  
**Firma del Experto**  
 DNI: 21493105

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN**

**JUICIO DE EXPERTOS**

**I. DATOS GENERALES**

- 1.1 APELLIDOS Y NOMBRES : *Victor Liborio Gomez Anchante*  
 1.2 GRADO ACADÉMICO : *Medico Patologo*  
 1.3 INSTITUCIÓN QUE LABORA : *ESSALUD*  
 1.4 TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN : Asociación entre el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Dic. 2017  
 1.5 NOMBRE DEL INSTRUMENTO : Ficha de recolección de datos  
 1.6 CRITERIOS DE APLICACIÓN :  
 a) De 01 a 09: (No valido, reformular)      b) De 10 a 12 (No valido, modificar)  
 c) De 12 a 15: (Valido, modificar)          d) De 15 a 18 (Valido, precisar)  
 e) De 18 a 20: (Valido, aplicar)

**II. ASPECTOS A EVALUAR:**

INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO	DE	CRITERIOS CUALITATIVOS CUANTITATIVOS	Deficiente (01 - 09)	Regular (10 - 12)	Bueno (12 - 15)	Muy Bueno (15 - 18)	Excelente (18 - 20)
			01	02	03	04	05
1. CLARIDAD		Esta formulado con lenguaje apropiado					18
2. OBJETIVIDAD		Esta expresado con conductas observables				17	
3. ACTUALIDAD		Adecuado con el avance de la ciencia y tecnologia					18
4. ORGANIZACIÓN		Existe una organización y lógica				17	
5. SUFICIENCIA		Comprende los aspectos en cantidad y calidad				17	
6. INTENCIONALIDAD		Adecuado para valorar los aspectos de estudio					19
7. CONSISTENCIA		Basado en el aspecto teórico científico y del tema de estudio					19
8. COHERENCIA		Entre las variables, dimensiones y variables.					18
9. METODOLOGÍA		La estrategia responde al propósito del estudio					20
10. CONVENIENCIA		Genera nuevas pautas para la investigación y construcción de teorías					18
Sub Total							
Total							

VALIDACIÓN CUANTITATIVA (total x 0.4) : .....  
 VALORACIÓN CUALITATIVA : .....  
 OPINIÓN DE APLICABILIDAD : .....

  
**DR. VICTOR GOMEZ ANCHANTE**  
 C.M.P. 17478 Reg. 9491  
 MEDICO PATOLOGO  
 HOSPITAL N° MANUEL MORALES REBOZA  
 ESSALUD ICA  
 Salud  
 Firma del Experto  
 DNI: 2.147.442.6

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN**

**JUICIO DE EXPERTOS**

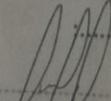
**I. DATOS GENERALES**

1.1 APELLIDOS Y NOMBRES : *Pérez Mendoza Juan Miguel*  
 1.2 GRADO ACADÉMICO : *TECNOLOGO MEDICO*  
 1.3 INSTITUCIÓN QUE LABORA : *ESSALUD*  
 1.4 TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN : Asociación entre el recuento de micronúcleos en células de epitelio bucal y tabaquismo en estudiantes de la EPTM-UAP Ica, Dic. 2017  
 1.5 NOMBRE DEL INSTRUMENTO : Ficha de recolección de datos  
 1.6 CRITERIOS DE APLICACIÓN :  
 a) De 01 a 09: (No valido, reformular)    b) De 10 a 12 (No valido, modificar)  
 c) De 12 a 15: (Valido, modificar)        d) De 15 a 18 (Valido, precisar)  
 e) De 18 a 20: (Valido, aplicar)

**II. ASPECTOS A EVALUAR:**

INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO	DE DEL	CRITERIOS CUALITATIVOS CUANTITATIVOS	Deficiente (01 - 09)	Regular (10 - 12)	Bueno (12 - 15)	Muy Bueno (15 - 18)	Excelente (18 - 20)
			01	02	03	04	05
1. CLARIDAD		Esta formulado con lenguaje apropiado					18
2. OBJETIVIDAD		Esta expresado con conductas observables				16	
3. ACTUALIDAD		Adecuado con el avance de la ciencia y tecnología				17	
4. ORGANIZACIÓN		Existe una organización y lógica					19
5. SUFICIENCIA		Comprende los aspectos en cantidad y calidad					19
6. INTENCIONALIDAD		Adecuado para valorar los aspectos de estudio					20
7. CONSISTENCIA		Basado en el aspecto teórico científico y del tema de estudio					19
8. COHERENCIA		Entre las variables, dimensiones y variables.					20
9. METODOLOGÍA		La estrategia responde al propósito del estudio					18
10. CONVENIENCIA		Genera nuevas pautas para la investigación y construcción de teorías				17	
<b>Sub Total</b>							
<b>Total</b>							

VALIDACIÓN CUANTITATIVA (total x 0.4) : .....  
 VALORACIÓN CUALITATIVA : .....  
 OPINIÓN DE APLICABILIDAD : .....

  
 Lic. Pérez Mendoza Juan Miguel  
 Tecnólogo Médico  
**Firma del experto**  
 DNI: *45723642*

## Análisis de confiabilidad por alfa de Cronbach

Datos:

Número de Item:10

Número de observaciones: 3

Resultados:

Alfa de Cronbach:0,9741

Covarianza media:3,1593

Ítem eliminado	Alfa de cronbach
1	0.9697
2	0.9782
3	0.9681
4	0.9698
5	0.9706
6	0.9679
7	0.9671
8	0.9679
9	0.9720
10	0.9782

Cronbach's alpha	Internal consistency
$\alpha \geq 0.9$	Excellent
$0.9 > \alpha \geq 0.8$	Good
$0.8 > \alpha \geq 0.7$	Acceptable
$0.7 > \alpha \geq 0.6$	Questionable
$0.6 > \alpha \geq 0.5$	Poor
$0.5 > \alpha$	Unacceptable

## **ANEXO 5: TOMA DE MUESTRAS DE CÉLULAS DEL EPITELIO BUCAL**

### **EQUIPOS**

- Microscopio de luz visible con objetivos de 10, 40 y 100X
- Centrífuga de mesa para tubos cónicos de 15 mL
- Baño de agua
- Refrigerador

### **MATERIALES**

- Pipetas de 5, 10 y 1 mL
- Pipetas tipo Pasteur con bulbos
- Tubos cónicos para centrifugar cultivos
- Tubos tipo Eppendorf
- Lamillas de vidrio o portaobjetos con pantalla esmerilada
- Cubreobjetos
- Cepillos citológicos o hisopos de algodón

### **REACTIVOS**

- Agua destilada
- Suero fisiológico
- Colorante Giemsa
- Ácido Acético glacial
- Metanol Absoluto

### **RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE CÉLULAS BUCALES**

Los voluntarios deben enjuagarse vigorosamente la boca con agua limpia, para luego raspar la parte interna de las mejillas con un cepillo citológico o con un aplicador de madera húmedo. El cepillo o el aplicador se colocan en un tubo tipo eppendorf conteniendo solución salina isotónica (NaCl 0.9%). Se golpea con el aplicador o con el cepillo en el fondo del tubo y las células se desprenden y caen a la solución. El procedimiento que sigue es similar al descrito arriba para las células epiteliales en lo que respecta a su fijación

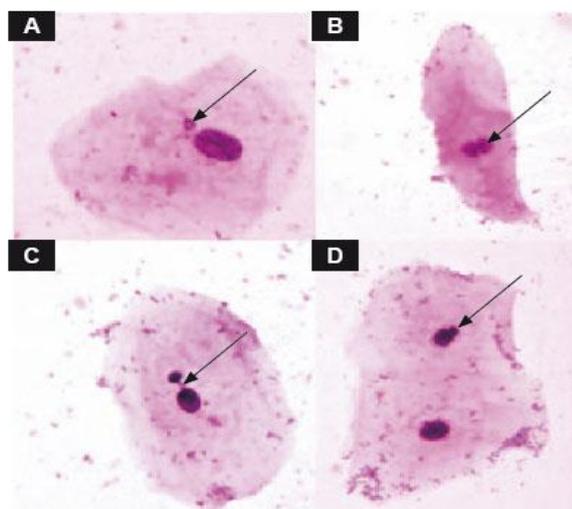


Ejemplo de cómo tomar la muestra por hisopado bucal

## ANEXO 6: PROCEDIMIENTO PARA EL RECuento DE MICRONÚCLEOS

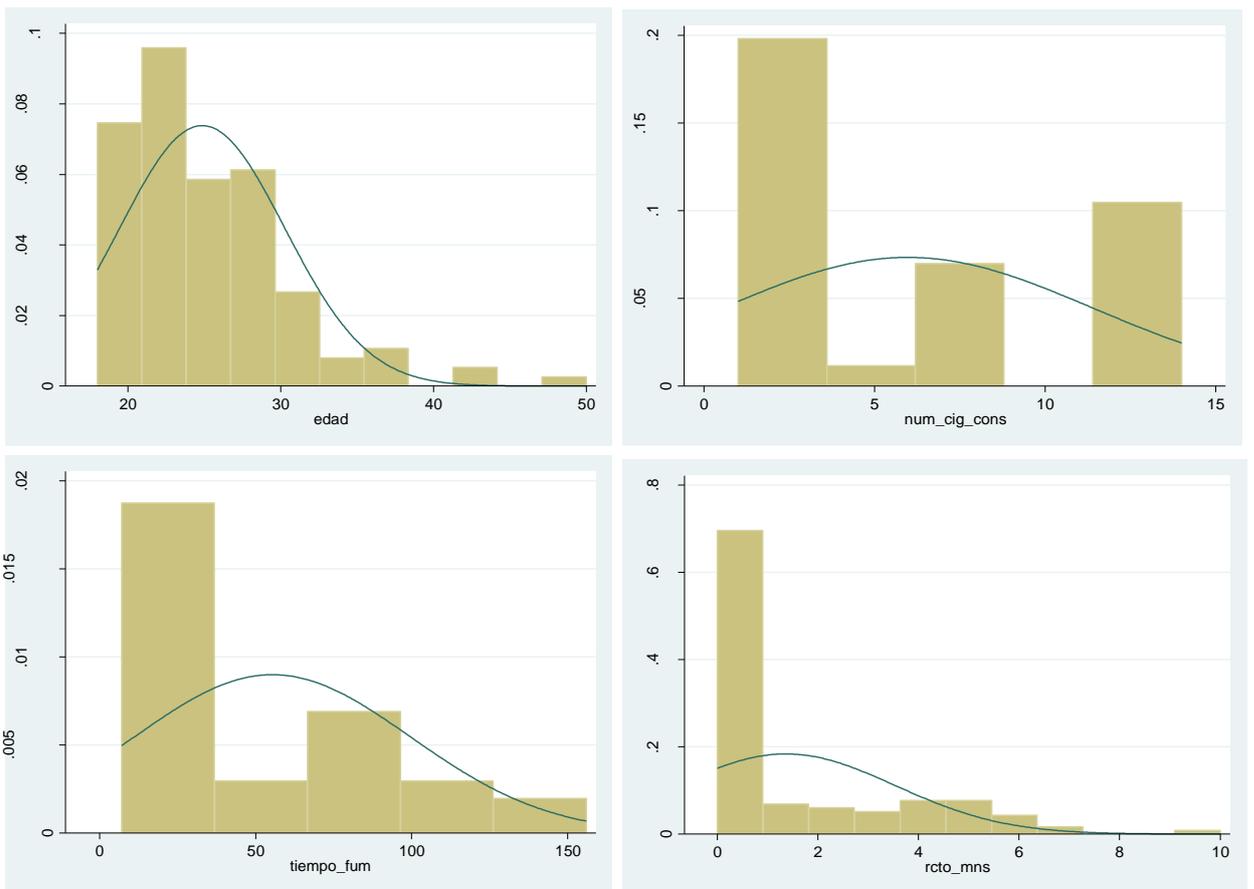
**PRESERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS:** Las células colectadas son centrifugadas por 5 minutos a 3500 rpm y pueden mantenerse en NaCl 0.9% a 4°C para su transporte al laboratorio, si la toma se hizo en el campo. O pueden fijarse después de haberse removido los restos celulares y acelulares con el lavado en solución salina. Para ello el botón celular se resuspende con una pipeta tipo Pasteur y se agrega una solución fría de fijador Carnoy, metanol absoluto: ácido acético glacial, 3:1 recién preparada, resuspendiendo el material para evitar la formación de agregados. El fijador se cambia por centrifugación al menos 2 veces más. Las muestras pueden conservarse en estas condiciones por largos periodos de tiempo en tubos tapados y en refrigeración.

**TINCIÓN Y ANÁLISIS AL MICROSCOPIO:** Las células epiteliales fijadas se gotean en portaobjetos limpios con alcohol absoluto y secados al aire. La suspensión celular se deja secar al aire. Las células se pueden teñir con Giemsa 5% para su revisión microscópica a 100X. Los criterios de análisis son importantes para obtener resultados confiables. Los descritos por Tolbert et al., (1992), son claros: las células analizables tienen que tener el citoplasma intacto y no estar encimadas o sobrepuestas con otras células. El micronúcleo debe tener una forma redondeada u ovoide con un borde liso y uniforme. Debe estar en el mismo plano focal que el núcleo principal. Su coloración debe ser similar en textura y densidad a la del núcleo y no estar conectado ni sobrepuesto con él.

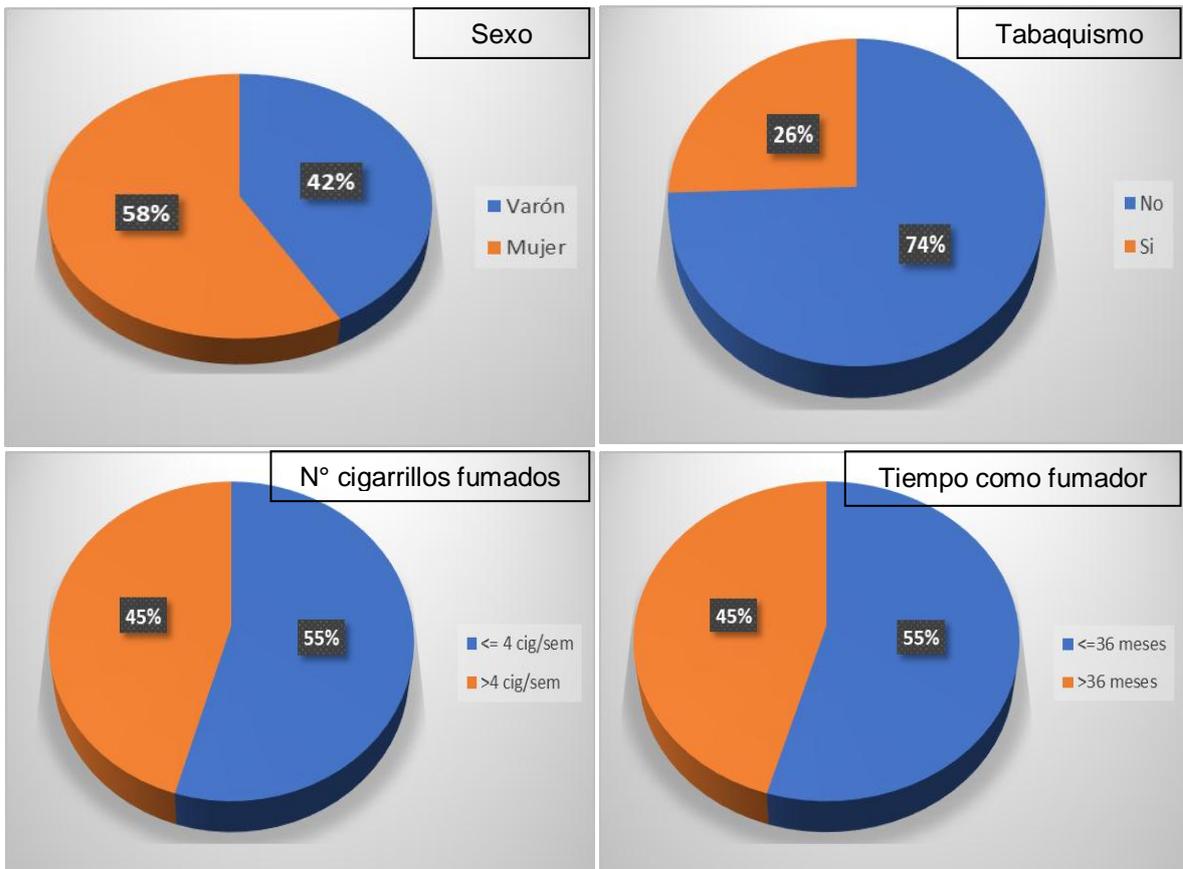


**Figura 2.** Micronúcleos y alteraciones nucleares en células de epitelio bucal. Las flechas señalan: a) micronúcleo; b) binucleación; c) puentes nucleoplásmicos; d) gemación (Giemsa, 100 X)

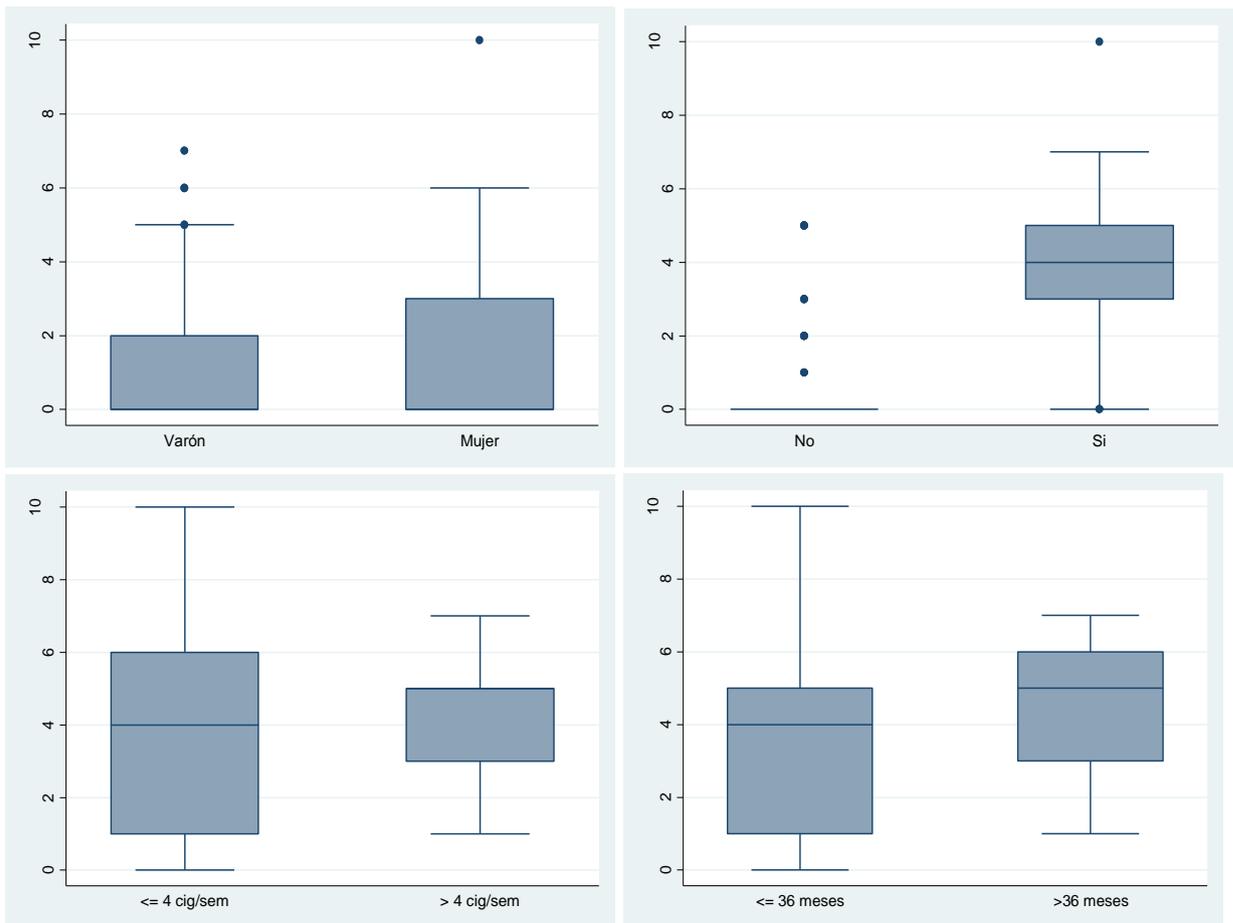
## ANEXO 7: GRÁFICOS



**Gráfico 1.** Histogramas de las variables numéricas: edad, número de cigarrillos fumados, tiempo como fumador y recuento de micronúcleos en células bucales



**Gráfico 2.** Frecuencias de las variables categóricas: sexo, tabaquismo, número de cigarrillos fumados por semana y tiempo como fumador



**Gráfico 3.** Distribución del recuento de MN según sexo, tabaquismo, número de cigarrillos fumados y tiempo como fumador

## ANEXO 8: SALIDAS STATA DE CÁLCULOS ADICIONALES

**Tabla 7.1.** Modelo de regresión de Poisson para las variables de estudio

```

Poisson regression              Number of obs   =          128
                               LR chi2(3)          =          173.85
                               Prob > chi2         =           0.0000
Log likelihood = -185.68743     Pseudo R2       =           0.3189
    
```

rcto_mns	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
tabaquismo	2.083502	.1718151	12.13	0.000	1.74675	2.420253
edad	.0229778	.0146278	1.57	0.116	-.0056923	.0516478
sexo	-.0689478	.1525974	-0.45	0.651	-.3680332	.2301375
_cons	-1.250565	.4093391	-3.06	0.002	-2.052855	-.4482754

**Tabla 7.2.** Prueba de bondad de ajuste, post estimación de regresión de Poisson

```

Deviance goodness-of-fit = 228.3514
Prob > chi2(124)         = 0.0000

Pearson goodness-of-fit = 320.6078
Prob > chi2(124)         = 0.0000
    
```

Ya que el p-valor es menor a 0.05, se rechaza la hipótesis nula que indica que la media es igual a la varianza; por ende se concluye que la varianza no es igual a la media, y por lo tanto existe sobre dispersión. Sin embargo, debe someterse a una evaluación del alfa, como parte de la regresión binomial negativa.

**Tabla 7.3.** Modelo de regresión binomial negativa para las variables de estudio y evaluación de la sobre dispersión (alfa)

```

Negative binomial regression          Number of obs   =          33
                                      LR chi2(4)       =           5.01
Dispersion = mean                    Prob > chi2     =          0.2864
Log likelihood = -73.435106          Pseudo R2      =          0.0330
    
```

rcto_mns	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
tabaquismo	0 (omitted)					
num_cig_cons	.0147475	.020301	0.73	0.468	-.0250418	.0545368
tiempo_fum	.0047962	.0025879	1.85	0.064	-.000276	.0098685
sexo	.1529435	.2257444	0.68	0.498	-.2895074	.5953944
edad	-.0054181	.0260455	-0.21	0.835	-.0564664	.0456301
_cons	1.018786	.5868854	1.74	0.083	-.1314887	2.16906
/lnalpha	-2.628209	1.41841			-5.408241	.1518225
alpha	.0722077	.10242			.0044795	1.163954

Likelihood-ratio test of alpha=0: chibar2(01) = 0.69 Prob>=chibar2 = 0.203

Dado que el p-valor no es menor a 0.05, no se rechaza la Hipótesis nula que indica que el alfa es igual a cero, por lo tanto, se concluye que el alfa es igual a cero; y por lo tanto el modelo a trabajar es con la regresión de Poisson.

**Tabla 7.4.** Modelo lineal generalizado (GLM) con distribución de Poisson considerando a la variable MN como numérica

```

Generalized linear models          No. of obs      =      128
Optimization      : ML              Residual df    =      124
                                          Scale parameter =      1
Deviance          = 221.0448538      (1/df) Deviance = 1.78262
Pearson           = 276.8471938      (1/df) Pearson = 2.232639

Variance function: V(u) = u          [Poisson]
Link function     : g(u) = ln(u)     [Log]

                                          AIC           = 2.906784
Log pseudolikelihood = -182.0341536  BIC           = -380.6069

```

rcto_mns	Robust		z	P> z	[95% Conf. Interval]	
	Coef.	Std. Err.				
_Itabaquism_1	2.121869	.2578462	8.23	0.000	1.6165	2.627239
_Isexo_1	-.1597923	.2303651	-0.69	0.488	-.6112997	.2917151
edad_cat	.4890831	.2161747	2.26	0.024	.0653885	.9127777
_cons	-.8827329	.2473427	-3.57	0.000	-1.367516	-.39795

**Tabla 7.5.** Modelo lineal generalizado (GLM) con distribución de Poisson considerando a la variable MN como dicotómica

```

Generalized linear models          No. of obs      =      129
Optimization      : ML              Residual df    =      125
                                          Scale parameter =      1
Deviance          = 51.62578158      (1/df) Deviance = .4130063
Pearson           = 84.07967996      (1/df) Pearson = .6726374

Variance function: V(u) = u          [Poisson]
Link function     : g(u) = ln(u)     [Log]

                                          AIC           = .9738433
Log likelihood    = -58.81289079     BIC           = -555.8508

```

mn_cat	OIM		z	P> z	[95% Conf. Interval]	
	IRR	Std. Err.				
_Itabaquism_1	9.698019	3.965402	5.56	0.000	4.351481	21.61369
_Isexo_1	.9534085	.3468992	-0.13	0.896	.4672702	1.945315
_Iedad_cat_1	1.662562	.6020205	1.40	0.160	.8176252	3.380659
_cons	.0647143	.0286367	-6.19	0.000	.0271854	.1540511

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bishop M.J. The molecular genetics of cancer, *Science* 235 (1987) 305–311.
2. Wilson D.F. Jun J.D., Pierce A.M., Weibkin W.O. Oral cancer: role of basement membrane in invasion, *Aust. Dent J.* 44 (2) (1999) 93–97.
3. Warnakulasuryia K.A.A.S., Johnson N.W. Sensitivity and specificity of Orascan toluidine blue mouth rinse in the detection of oral cancer and pre-cancer, *J. Oral. Pathol. Med.* 25 (1996) 97–103.
4. Hayashi M., Sofini T., Ishidate M. Jr. An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test, *Mutat. Res.* 120 (1983) 241–247.
5. Stich H.F., Rosin M.P. Micronucleus in exfoliated human cells as a tool for studies in cancer risk and cancer intervention, *Cancer Lett.* 22 (1984) 241–253.
6. Adhvaryu S.G., Dave B.J., Trivedi A.H. Cytogenetic surveillance of tobacco— areca nut (mava) chewers, *Mutat. Res.* 261 (1991) 41–49.
7. Zalacain M., Sierrasesúmaga L., Patiño A. The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2005; 28 (2): 227-236.
8. <http://www.ligacancer.org.pe/fumar.html>
9. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Nota de prensa N°84-2014. 30/05/2014. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/noticias/nota-de-prensa-n-084-2014-inei.pdf>
10. Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence. *Lung Cancer.* 2004 Aug;45 Suppl 2: S3-9.
11. Wagner PD, Verma M, Srivastava S. Challenges for biomarkers in cancer detection. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Jun; 1022:9-16.

12. Stith H.F., Rosin M.P., Vallejera M.O. Reduction with vitamin A and beta-carotene administration of proportion of micronucleated buccal mucosal cells in Asian betel nut and tobacco chewers, *The Lancet*. 1984;2:1204-6.
13. Gómez Chávarri, Diana. Consumo de tabaco en estudiantes de una universidad privada en Lima. Tesis para obtener el grado de Médico Cirujano. Universidad Científica del Sur. Lima, 2016.
14. Fernandini Artola, Jorge. Consumo de tabaco en estudiantes de medicina. Tesis para optar por el grado de magíster en Salud Pública. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2011
15. Rivera, C. Determinación del daño genotóxico en trabajadores expuestos a formaldehído de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana (Tesis). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2015.
16. Eker ED, Koyuncu H, Şahin NÖ, et al. Determination of Genotoxic Effects of Hookah Smoking by Micronucleus and Chromosome Aberration Methods. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2016; 22:4490-4494.
17. Nefic H., Musanovic J., Kurteshi K., Prutina E., Turcalo E. The effects of sex, age and cigarette smoking on micronucleus and degenerative nuclear alteration frequencies in human buccal cells of healthy Bosnian subjects. *Journal of Health Sciences* 2013;3(3):196-204.
18. Naderi NJ, Farhadi S, Sarshar S. Micronucleus assay of buccal mucosa cells in smokers with the history of smoking less and more than 10 years. *Indian J Pathol Microbiol*. 2012 Oct-Dec;55(4):433-8.
19. Nersesyan A, Muradyan R, Kundi M, Knasmueller S. Impact of smoking on the frequencies of micronuclei and other nuclear abnormalities in exfoliated oral cells: a comparative study with different cigarette types. *Mutagenesis*. 2011;26(2):295-301.
20. World Health Organization. Tobacco or health: a global status report. Geneva: World Health Organization, 1997
21. Peto R. Smoking and death: the past 40 years and the next 40. *BMJ* 1994; 309: 937-9

22. Henningfield JE, Stapleton JM, Benowitz NL, et al. Higher levels of nicotine in arterial than in venous blood after cigarette smoking. *Drug Alcohol Depend* 1993; 33: 23-9
23. US Department of Health and Human Services. A report of the Surgeon General: the health consequences of smoking, nicotine addiction. Washington (DC): US Department of Health and Human Services, 1988
24. Henningfield JE, Clayton R, Pollin W. Involvement of tobacco in alcoholism and illicit drug use. *Br J Addict* 1990; 85: 279-92
25. World Health Organization. International statistical classification of diseases and related health problems (ICD-10). 10<sup>th</sup> rev. ed., vol. 1. Geneva: World Health Organization, 1992
26. Benowitz NL. Nicotine addiction. *Prim Care* 1999; 26: 611-31 10.
27. Hughes JR. Tobacco withdrawal in self-quitters. *J Consult Clin Psychol* 1992; 60: 689-97
28. Hughes JR, Hatsukami D. Signs and symptoms of tobacco withdrawal. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43: 289-94
29. West R, Russell M, Jarvis M, et al. Urinary adrenaline concentrations during 10 days of smoking abstinence. *Psychopharmacology* 1984; 84: 141-2
30. Imperato A, Mulas A, Di Chiara G. Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats. *Eur J Pharmacol* 1986; 132: 337-8
31. Corrigall WA, Franklin KBJ, Coen KM, et al. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacology* 1992; 107: 285-9
32. Benwell MEM, Balfour DJK. The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br J Pharmacol* 1995; 105: 849-56
33. Kalivas PW, Sorg BA, Hooks MS. The pharmacology and neural circuitry of sensitization to psychostimulants. *Behav Pharmacol* 1993; 4: 315-34
34. Epping-Jordan MP, Watkins SS, Koob GF, et al. Dramatic dereases in brain reward function during nicotine withdrawal. *Nature* 1998; 393: 76-9

35. American Psychiatric Association. Nicotine-induced disorder: diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSMIV). Washington: American Psychiatric Association, 1994: 244-7
36. Stedman TL. Stedman's Medical Dictionary. Baltimore, USA, Williams & Wilkins; 1995: twenty-sixth edition. Page: 1113.
37. Belein MAJ, Copper PM, Braakhus MJB, Snow BG, Baak APJ. Standardization of counting micronuclei: Definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. *Carcinogenesis*. 1995;16(10):2395-2400.
38. Sivasankari PN, Kaur S, Reddy KS, Vivekanandam S, Rao RK. Micronucleus index: An early diagnosis in oral carcinoma. *J Anat. Soc. India*. 2008;57(1):8-13.
39. Grover S, Mujib A, Jahagirdar A, Telagi N, Kulkarni P. A comparative study for selectivity of micronuclei in oral exfoliated epithelial cells. *Journal of Cytology / Indian Academy of Cytologists*. 2012;29(4):230-235
40. Ramirez A, Saldanha PH. Micronucleus assay of alcoholic patients with oral carcinomas. *Genetics and Molecular Research*. 2002;1(3):246-260.
41. Ford JH, Schultz CJ, Correll AT. Chromosome elimination in micronuclei: A common cause of hypoploidy. *Am. J. Hum. Genet*. 1988; 43:733-740.
42. Catalan J, Falck GCM, Norppa H. The X chromosome frequently lags behind in female lymphocyte anaphase. *Am. J. Hum. Genet*. 2000; 66:687-691.
43. Falck GCM, Catala'n J, Norppa H. Nature of anaphase laggards and micronuclei in female cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutagenesis*. 2002;17(2):111-117.
44. Cimini D, Fioravanti D, Salmon ED, Degrossi F. Merotelic kinetochore orientation versus chromosome monoorientation in the origin of lagging chromosomes in human primary cells. *J Cell Science*. 2002; 115:507-515.
45. Sarto F, Finotto S, Giacomelli L, Mazotti D, Tomanin R, Levis AG. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal cells. *Mutagenesis*. 1987;2(1):11-17.
46. Holland N, Bolognesi C, Volder MK, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring

- DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res.* 2008;659(1-2):93-108.
47. McCaffrey LM, Macara IG. Epithelial organization, cell polarity and tumorigenesis. *Trends Cell Biol.* 2011;21(12):727–35.
  48. Palve H, Tupkari V. Clinico-pathological correlation of micronuclei in oral squamous cell carcinoma by exfoliative cytology. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2008; 12:2-7.
  49. Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer.* 2006; 5:11–8.
  50. Desai SS, Ghaisa SD, Jakhib SD, Bhide SV. Cytogenetic damage in exfoliated oral mucosal cells and circulating lymphocytes of patients suffering from precancerous oral lesions. *Cancer Lett.* 1996; 109:9–14.
  51. Stich HF, Stich W, Parida BB. Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals at high risk for oral cancer: betel quid chewers. *Cancer Lett.* 1982;17(2):125–34.
  52. Husgafvel-Pursiainen K. Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review. *Mutat Res.* 2004;567(2-3):427–45.
  53. Stich HF, Rosin MP. Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells. *Int J Cancer.* 1983; 31:305–8.
  54. Szklo, M, and F. Javier nieto.2004. *Epidemiology:beyond the basic.* Sudbury,Mass: Jones and Bartlett.
  55. Siriwardena BS, Rasnayaka RM1, Masood Y, Masood M, Kumarasiri PV, Tilakaratne WM. Predictive model of oral cancer metastasis for different cancer sites and age groups. *J Investig Clin Dent.* 2016 May;7(2):127-31.