

Análisis citogenéticos en personas expuestas a radiaciones ionizantes*

M. Espinoza¹, N. Oliveros², D. Valencia² y J. Descailleaux²

(1) Instituto Peruano de Energía Nuclear, Apt. 1687, Lima

(2) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Avda. Venezuela
s/n, Lima

Recibido 3 de agosto de 1993
Aceptado 16 de agosto de 1993

Abstract

Cytogenetical findings in 18 cases of suspected overexposure to ionizing radiations are shown. Despite the fact that in almost every case a number of aberrations was described, it was possible the estimation of biological doses in only two of them. Six persons (students working with x-rays in a practice) received very localized high doses in fingers and eyes because of the incredibly erroneous use of an X-ray diffraction machine, being their biological doses to whole body not relevant at all. Typical radiation-induced chromosomal damage (which is useful for biological dosimetry) is the appearance of dicentric chromosomes, chromosomal rings and acentric fragments, but the greatest amount of cytogenetical abnormalities found in this group are chromosomal breaks and gaps, chromatid aberrations, translocations, deletions, and radial figures (grouped as "others" in Table 1). This led us to suppose a high number of background chromosomal aberrations in this people, probably because of wrong application of radiation protection rules.

Desde que en 1962 M.A. Bender estableció la correlación existente entre el índice de alteraciones citogenéticas por célula y la dosis recibida por una persona expuesta

*Este trabajo corresponde al proyecto PER/9/014 de Asistencia Técnica del Organismo Internacional de Energía Atómica.

a las radiaciones ionizantes, la dosimetría citogenética, dosimetría cromosómica o dosimetría biológica se convirtió en el único método confiable para estimar la dosis biológica absorbida por un ser humano expuesto a las radiaciones ionizantes, especialmente en casos accidentales cuando no existen datos de la dosimetría física o cuando ésta no es confiable [1,2]. En nuestro laboratorio de Citogenética y Radiobiología del Centro Nuclear "Oscar Miró Quesada de la Guerra" hemos establecido la técnica de cultivo de linfocitos de la sangre venosa para el estudio de las alteraciones citogenéticas y de este modo determinar el índice de alteraciones cromosómicas para la posterior estimación de la dosis biológica en los afectados [3]. Entre 1985 y 1988 elaboramos nuestras curvas de calibración para los efectos citogenéticos bajo radiaciones X y gamma, contando para ello con el asesoramiento de varios especialistas y el apoyo del OIEA .

En síntesis, para el cultivo de linfocitos [4] tomamos 10 ml de sangre venosa en un tubo de vidrio sellado al vacío que contiene heparina con litio y homogenizamos la muestra muy suavemente y en total asepsia. Colocamos quince gotas de esta sangre en un tubo que contiene 5 ml de medio de cultivo TC 199 (en algunos casos hemos utilizado el medio F-10), 1 ml de suero humano inactivado por calor (cuando es posible usamos el suero del mismo paciente, en cuyo caso no inactivamos), 0,15 ml de fitohemaglutinina, 5-bromodesoxiuridina a una concentración final de 15 μM y tres gotas de nuestra solución de antibióticos (penicilina y estreptomina, 10000 IU por ml). El tubo de cultivo debe tener una tapa hermética que impida la contaminación. Dejamos en incubación por 48 h. en completa oscuridad y a 37 grados centígrados. A las 45 h. se le adiciona a cada tubo de cultivo 3 gotas de una solución de colchicina (o algún derivado) de 25 μg por ml y dejamos actuar por 3 h. en la incubadora. A las 48 horas centrifugamos a 800 rpm por 10 min. y retiramos el sobrenadante; al sedimento adicionamos 10 ml de solución hipotónica (KCl 0,075M), homogenizamos muy suavemente y dejamos en reposo a temperatura ambiente por 15 min. En seguida, volvemos a centrifugar por 10 min. a 800 rpm, retiramos el sobrenadante y al sedimento adicionamos, gota a gota, utilizando un agitador de tubos (vortex mixer) 5 ml de fijador (metanol -ácido acético 3:1). Dejamos actuar por 20 min. y repetimos esta operación de fijación 2 veces más. Después de la última fijación usualmente queda un pequeño volumen (0,5 ml, más o menos) de muestra que se recoge con una pipeta Pasteur y se gotea sobre láminas portaobjeto limpias y húmedas en agua helada. Tres gotas de la muestra sobre cada lámina son suficientes para el estudio al microscopio. Las láminas son sometidas a un procedimiento de coloración denominado FPG para su posterior análisis al microscopio [5].

Tabla 1. Resumen del estudio citogenético en 18 casos de personas expuestas a radiaciones ionizantes. Ver texto

Caso	S	E	C.A.	Anom. Citogenet.				Tipo Irrad.	Fte.	Rep. Dosis (Sv)	Est. por Reconst.
				D I C	C R	A C E	Otras				
MCC	F	30	150	-	-	-	6	C.E.	X	37,11 (a)	-
MLCh	M	48	331	-	1	1	36	C.E.	X	5,00	$1,88 \times 10^{-2}$
RCN	M	33	343	-	-	-	19	C.E.	γ	3,00	$4,4 \times 10^3$
LGCh	M	23	263	3	-	7	14	Parc.	X	-	(b)
PPM	M	24	119	-	-	12	14	Parc.	X	-	(b)
BFD	M	24	95	1	-	1	7	Parc.	X	-	(b)
ECH	M	22	100	-	-	1	14	Parc.	X	-	(b)
ISF	F	23	15	-	-	-	3	Parc.	X	-	(b)
PLR	F	30	148	1	-	4	27	Parc.	X	-	(b)
LBF	M	27	105	-	-	2	7	C.E.	X	-	-
FChQ	M	54	230	-	-	4	3	C.E.	X	-	-
SCP	M	49	151	-	-	3	13	Parc.	n ¹³⁷ Cs	-	$1,079 \times 10^{-3}$ 1,39
HBN	F	-	76	-	-	-	3	C.E.	β γ	2,38 8,30	- -
SJG	M	-	84	-	-	-	-	C.E.	X	2,48	$1,1 \times 10^{-4}$
VBB	M	46	103	-	-	2	12	C.E.	X	-	-
RBM	F	35	198	6	-	12	8	C.E.	X	-	(c)
VRY	M	33	190	1	-	6	5	C.E.	γ	0,103	(d)
RMQ	F	37	104	-	-	1	3	C.E.	X	0,381	$1,35 \times 10^{-3}$

En la Tabla 1, cada caso está identificado con las iniciales del afectado; S: Sexo; E: Edad; C.A.: Células Analizadas; DIC: Cromosomas Dicéntricos; CR: Cromosomas en anillo; ACE: Fragmentos Acéntricos; OTRAS: Todas las demás alteraciones cromosómicas encontradas (translocaciones, quiebras cromosómicas y cromatídicas, cromosomas marcadores y gaps); C.E.: Cuerpo Entero (esta es una suposición solamente ya que es muy poco probable que hubiese habido exposición homogénea bajo las condiciones de trabajo de estas personas) Parc.:Parcial. Report. Dosis : Se refiere a las dosis inicialmente estimadas de la lectura de los dosímetros personales; (a): Fue la dosis que recibió esta persona en tres meses anteriores al estudio, (b): Este fue un grupo de estudiantes accidentalmente irradiados por el uso erróneo de un equipo de difracción de rayos X; las dosis estimadas por reconstrucción física del accidente estuvieron entre 10 y 15 Gy en los dedos de las manos; (c): En este caso fue posible una estimación de la dosis biológica de 1 Gy; (d): En este caso la dosis biológica estimada fue de 0,20 Gy.

Las radiaciones ionizantes son muy eficientes en producir aberraciones cromosómicas y de ellas, las más fáciles de estudiar (y por lo tanto, de correlacionar con las dosis absorbidas por los tejidos biológicos), son los cromosomas dicéntricos (DIC), los anillos cromosómicos céntricos (CR) y los fragmentos acéntricos (ACE) [6,7]. En la Tabla 1 mostramos los resultados del análisis citogenético en 18 casos de supuesta sobreexposición a radiaciones ionizantes por causas accidentales. Los análisis demostraron en la mayoría de los casos que las dosis sospechadas en un primer momento no fueron realmente recibidas por los involucrados. Para el análisis cromosómico seguimos las pautas establecidas por el OIEA en su publicación Technical Reports Series 260, 1986 [5]. Todos los estudios citogenéticos realizados en nuestro laboratorio han sido hechos a petición del médico radiosanitario y han complementado el informe final correspondiente a cada accidente.

Referencias

- [1] D. C. Lloyd y R. J. Purrott., *Radiat. Prot. Dosim.*, 1(1981)19-28.
- [2] H. J. Evans y D. C. Lloyd (editores). *Mutagen-induced Chromosome Damage in Man*, Edinburgh University Press, 1978.
- [3] J. Descailleaux, M. Espinoza, D. Valencia y M. L. Guevara, *Informe Nuclear*, 2.1(1984) 67-74.
- [4] D. E. Rooney y B. H. Czepulkowski(editores), *Human Cytogenetics: A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, Inglaterra, 1986.
- [5] *Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment*. IAEA Technical Reports Series No.260, IAEA, Vienna, 1986.
- [6] T.Ishihara y M. S. Sasaki (editores), *Radiation-induced Chromosome Damage in Man*, Alan R. Liss, Inc., New York, 1986.
- [7] J. R. K. Savage, *J. Med. Genet.*, 12(1975) 103 - 122.