



MX0500335

XVI Congreso Anual de la SNM y XXIII Reunión Anual de la SMSR  
XVI SNM Annual Meeting and XXIII SMSR Annual Meeting  
Oaxaca, Oaxaca, México, Julio 10-13, 2005 / Oaxaca, Oaxaca, México, July 10-13, 2005

## Aberraciones Cromosómicas Inducidas por Partículas $\alpha$

Citlali Guerrero Carbajal y Matilde Breña Valle

Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares km. 36.5, Carrera México-Toluca  
[cgc@nuclear.inin.mx](mailto:cgc@nuclear.inin.mx); [mbv@nuclear.inin.mx](mailto:mbv@nuclear.inin.mx)

### Resumen

Las aberraciones cromosómicas producidas por la radiación ionizante son comúnmente utilizadas cuando es necesario establecer la dosis de exposición de un individuo, es un estudio que se utiliza como complemento de los sistemas físicos tradicionales y su aplicación es solamente en casos en que haya duda acerca de lo que indique la dosimetría convencional. La dosimetría biológica se basa en la frecuencia de aberraciones en los cromosomas de los linfocitos del individuo en estudio y se calcula la dosis tomando como referencia a las curvas de dosis-respuesta previamente generadas *in vitro*. Se presenta un caso de aparente sobre-exposición a partículas alfa al que se le practicó análisis de aberraciones cromosómicas para establecer si en realidad hubo exposición y en lo posible, determinar la presunta dosis.

### 1. INTRODUCCIÓN

En el año 2003 se identificó una contaminación con material transuránico y se detectó la incorporación de este material en el encargado de seguridad radiológica. El isótopo originalmente identificado *in vivo* por espectrometría gamma en el individuo afectado fue  $\text{Am}^{241}$ . Los análisis de la investigación posterior indican que la contaminación se originó a partir de una fuente de calibración de  $\text{Pu}^{239}$ . El  $\text{Am}^{241}$  proviene del  $\text{Pu}^{241}$  que en este caso estaba presente como impureza en la fuente de  $\text{Pu}^{239}$ , cuya vida media es de 14.4 años.

Como se sabe todos estos isótopos son emisores alfa. Al irradiar *in vitro* linfocitos humanos con partículas alfa se observa que la frecuencia de aberraciones es directamente proporcional a la dosis pero además se menciona que la gran cantidad de lesiones cromosómicas llamadas “complejas” son debidas a rompimientos cromosómicos múltiples que podrían ser consideradas como indicador de daño por ese tipo de radiación [1, 2].

Al parecer el efecto de las partículas alfa no se restringe al núcleo sino que el daño biológico se puede identificar en blancos extranucleares, ya que en condiciones controladas de dosis, LET (transferencia lineal de energía) y flujo de partículas, se comprueba que hay más células dañadas de las que se esperaba, daño que incluye no sólo al núcleo, sino también al citoplasma. Además se ha observado que en cultivos mixtos, es decir que contienen tanto células irradiadas como no irradiadas los descendientes de estas últimas presentan inestabilidad cromosómica [3].

El posible daño en la salud por exposiciones ambientales de radionúclidos emisores de partículas  $\alpha$  aún no ha sido totalmente aclarado, principalmente debido a la incertidumbre que hay en cuanto a la distribución en los tejidos y órganos específicos particularmente pulmón y médula ósea [3].

Sin embargo en situaciones como la presente, la dosimetría biológica no solamente permite estimar la dosis a la célula, sino que mediante muestreos anuales se puede dar seguimiento al comportamiento de las aberraciones cromosómicas inestables así como a las llamadas complejas que se derivan de la exposición a partículas alfa.

A la fecha se tienen dos muestras que corresponden a 2003 y 2004 pero en la medida de lo posible, se pretende continuar con el estudio mediante muestreos anuales en la persona afectada.

## **2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **2.1. Obtención de Muestra**

La muestra de sangre de la persona afectada se obtuvo en junio de 2003 y posteriormente de julio 2004. Se toma por punción en la vena procurando que el volumen de sangre sea suficiente para tener un mínimo de 4 ml, utilizando tubos con heparina de litio, tapón de goma y al vacío (sistema Vacutainer de Becton Dickinson).

### **2.2. Cultivo y Cosecha de Linfocitos**

Para separar a los leucocitos del resto de las células sanguíneas, por cada 2 ml de sangre se adiciona 1.0 ml de suero fetal de ternera y 150  $\mu$ l de fitohemaglutinina que estimula la división celular. Se centrifuga durante 5 minutos a 500 rpm, se recupera el sobrenadante con los leucocitos y se siembran en medio mínimo esencial con 2mM de L-glutamina, 200 unidades/ml de penicilina, 100  $\mu$ g/ml de estreptomicina, 20 unidades/ml de heparina de sodio y 20  $\mu$ M de 5-bromo-2-desoxiuridina. Todo se incuba durante 48 horas a 37°C y 2 horas antes de cumplirse este período, se agregan 100 $\mu$ l de colchicina para interrumpir la división celular en metafase. Las metafases se aíslan por tratamiento hipotónico en KCl 0.75 M durante 7 minutos a 37°C y a continuación se hacen tres cambios con solución fijadora **3:1** de metanol:ácido acético. Se pueden almacenar en el fijador a -20°C hasta el momento de necesitarse [4].

### **2.3. Preparación de Laminillas por el Método de Fluorescencia y Giemsa (FYG)**

Para teñir los cromosomas se utilizan dos colorantes. Las laminillas se sumergen primero en solución 0.5 mg/ml de colorante Hoechst 33258 durante 20 min. Se enjuaga con agua destilada, se agregan 2 a 3 gotas de solución de Hoechst y se expone a luz ultravioleta por 20 min. Más adelante se efectúa la segunda tinción con solución Giemsa al 5% durante 5 min. El montaje se realiza previa deshidratación en xileno y pasadas 24 horas puede iniciarse el análisis al microscopio.

## 2.4. Análisis de Metafases

Para localizar las metafases adecuadas con sus 46 cromosomas bien separados, se examinan las laminillas utilizando el objetivo de bajo aumento del microscopio. A continuación, para el análisis de daño cromosómico representado por dicéntricos y sus correspondientes fragmentos, se cambia al objetivo de mayor aumento. Para determinar si existe daño cromosómico causado por radiación se examinan 1000 metafases, se cuentan las lesiones y se refieren a la curva calibrada para establecer la dosis de exposición.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSION

La detección del  $\text{Am}^{241}$  se realizó con dos detectores de germanio hiperpuro (GeHp) en el equipo Accuscan II del ININ cuyo nivel mínimo de detección es de 13 Bq (Tabla I) [5].

**Tabla I. Mediciones *in vivo* de la actividad en pulmón.**

Fecha	Actividad pulmón (Bq)
9 abril 2003	$53 \pm 41$
11 abril 2003	$53 \pm 41$
29 abril 2003	$39 \pm 55$

En la Tabla II se presenta el número de aberraciones cromosómicas en los linfocitos de la persona afectada correspondientes a los dos muestreos realizados en 2003 y 2004. En ambas ocasiones se analizaron 1000 células, con el objeto de reducir la desviación estándar. La frecuencia basal de aberraciones cromosómicas en personal ocupacionalmente expuesto es de 0.002 dicéntricos por célula, pero en los análisis aquí realizados son más altas, 0.006 y 0.008 respectivamente. Considerando la desviación estándar en ambas frecuencias de dicéntricos, el aumento aparente registrado en el año 2004 con respecto al de 2003 no es significativo. El primer muestreo se efectuó 4 meses después de identificada la contaminación, lo que lleva a suponer que las frecuencias calculadas a la fecha, se mantendrán estables durante varios años ya que las aberraciones cromosómicas de tipo inestable pueden ser identificadas dentro del período equivalente a la vida media del linfocito, que va de 3 a 5 años.

**Tabla II. Análisis citogenético de los linfocitos en las dos fechas de muestreo.**

Fecha	Total células	No. Células Normales	Número de Dicéntricos	Número de Acéntricos	Frecuencia Dicéntricos/célula	Frecuencia Acéntricos/célula	Dosis (Gy)
Jun 03	1000	990	6	5	$0.006 \pm 0.002$	$0.005 \pm 0.002$	0.022
Jul 04	1000	983	8	8	$0.008 \pm 0.003$	$0.008 \pm 0.003$	0.029

El cálculo de dosis individual se estima a partir de la relación entre el daño cromosómico (**Y**) y la dosis (**D**). Lo anterior supone que para formar un dicéntrico se necesita: **1**) que dos cromosomas presenten rupturas dobles, es decir, en ambas cromátidas y **2**) que haya intercambio entre ambos. De tal forma que una trayectoria o traza de ionización produzca dos lesiones en dos cromosomas

distintos representado en la ecuación por un coeficiente ( $\alpha$ ) o bien, que cada lesión sea producto de dos trazas independientes, en cuyo caso el coeficiente es ( $\beta$ ). En el caso de las partículas alfa que tienen gran poder de ionización, este último coeficiente se convierte en cero.

De acuerdo a experimentos de irradiación *in vitro* [2] la ecuación que explica el comportamiento de las aberraciones cromosómicas en función de la dosis es:

$$Y = c + \alpha D$$

Los parámetros que definen estos autores para partículas alfa son:

$$c = (3.9 \pm 1.3) \times 10^{-4}$$

$$\alpha = 0.27 \pm 0.02$$

Aplicando la ecuación, los estimados de dosis para cada una de las fechas en las que se tomó la muestra de sangre son respectivamente 0.022 y 0.029 Gy (Tabla II). Cabe hacer notar que la dosis aquí establecida es la que corresponde a los linfocitos, pero este análisis no permite determinar la de los órganos o tejidos específicos en los que se concentra el radionúclido [1]. Sin embargo para estimar el equivalente de dosis a cuerpo entero en personas contaminadas internamente con emisores alfa, se pueden referir los datos del análisis de aberraciones cromosómicas a la ecuación que describe la relación dosis-respuesta de linfocitos humanos generada *in vitro* por otros autores [1, 2].

#### 4. CONCLUSIONES

Las dosis estimadas para los años 2003 y 2004 son respectivamente, de 0.022 y 0.029 Gy. Si bien solamente corresponden a la dosis en los linfocitos, la información generada sirve de referencia tanto para definir la exposición como para seguir el comportamiento de las aberraciones inestables en la persona afectada a lo largo del tiempo.

#### 5. REFERENCIAS

1. DuFrain RJ, LG Littlefield, EE Joiner y EL Frome, "Human cytogenetic dosimetry: A dose-response relationship for alpha particle radiation from  $^{241}\text{Am}$ ", *Health Phys*, **37**, p. 279-289 (1979).
2. Schmid E, L Hieber, U Heinzmann H Roos y AM Kellerer, "Análisis of chromosome aberrations in human peripheral lymphocytes induced by *in vitro*  $\alpha$ -particle irradiation", *Radiat. Environ. Biophys*, **35**, p. 179-184, (1996).
3. Lorimore SA, MA Kadhim, DA Pocock, D. Papworth, DL Stevens, DT Goodhead, "Chromosomal instability in the descendants of unirradiated surviving cells after  $\alpha$ -particle irradiation", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, p. 5730-5733 (1998).
4. IAEA. *Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment*, Technical Reports Series. No. 260, International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria (1986).

5. Molina G, M Ruiz, A Angeles y JA Benítez, “Lecciones aprendidas en el accidente de contaminación con Pu-239”, *Congreso Internacional Conjunto LAS/ANS-SNM-SMSR. XV Congreso Anual de la SNM y XXII Reunión Anual de la SMSR/XV SNM*, Julio Cancún, Q.R., México (2004).