

79
Rej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIATURA EN BIOLOGIA

DETERMINACION DE LA FRECUENCIA DE
LINFOCITOS-T RESISTENTES A 6-TIO-
GUANINA COMO UN POSIBLE INDICADOR
DE EXPOSICION A RADIACION IONIZAN
TE.

Biología

BLANCA MARGARITA GOMEZ CHAVARIN

MEXICO, D.F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

OBJETIVOS

INTRODUCCION

La Radiación y sus Tipos

Unidades de Radiación

Fuentes de Exposición a Radiación

Efectos de la Radiación Ionizante sobre
La Materia Orgánica.

Efectos de la Radiación Ionizante en -
Estudios Experimentales

Efectos Biológicos de la Radiación Io -
nizante en el Hombre

Efectos de la Radiación sobre la -
Salud.

Efectos Somáticos

Efectos Reproductivos

Organos Críticos y Efectos Especí-
ficos en Tejidos

Accidentes en Plantas Nucleares

Accidente Radiactivo en Cd. Juárez Chihua
hua.

Dosimetría.

Dosimetría Física y Química

Dosimetría Biológica

Evaluación de Daño Cromosómico

Tipos de Aberraciones

Curvas de Calibración

La Determinación de Mutaciones Genéticas en el locus HGPRT.

Deficiencia Congenita en el locus HGPRT

Aspectos Básicos sobre la Enumeración de Linfocitos T Mutantes en el locus HGPRT

Resistencia a Análogos de Purina

El Locus HGPRT

MATERIAL Y METODO

Criterios para la Evaluación de Autoradiografías.

Análisis Estadístico

RESULTADOS

DISCUSION

BIBLIOGRAFIA

INDICE DE TABLAS

Y FIGURAS

TABLA I.		Definición de Unidades y Cantidades de Radiación.
TABLA I.	2	Factores Involucrados en la Evaluación de la Dosis de Exposición.
TABLA I.	3	Dosis Umbrales en Animales de Experimentación
TABLA I.	4	Síntomas y Signos Clínicos del Daño por Radiación en los sobrevivientes de Hiroshima y Nagasaki.
TABLA I.	5	Efecto de la Radiación en Tejidos Específicos.
TABLA I.	6	Isótopos Contaminantes Producidos en Explosiones Nucleares.
TABLA I.	7	Usos de Diferentes Detectores de Radiación.
FIG. I.1		Ciclo Celular
TABLA I.	8	Tipos de Aberraciones Cromosómicas.
TABLA I.	9	<i>Curvas de Calibración;</i> Coefficientes Alfa y Beta de la Relación Lineal Cuadrática Dosis-Efecto para Cromosomas Dicéntricos (Dicéntricos mas Anillos) en Linfocitos Humanos Expuestos a Diferentes Tipos de Radiación; Datos Obtenidos por Tinción Convencional.
FIG. I.2		Curva Dosis Respuesta para Linfocitos Humanos Irradiados <u>In Vitro</u> .
FIG. I.3		Síntesis de Purinas por Vía de <u>Novo</u> y Vía de Ahorro.
FIG. I.4		Mecanismo de Toxicidad de la 6-Tioguanina.

FIG. I.5	Sitios Frálgiles en el Cromosóma X de Humanos.
TABLA M.1	Datos de los Individuos Expuestos Accidentalmente a Radiación Ionizante.
FIG. M.1	Linfocito Mutante, en el que se observe la Marca Autorradioqráfica.
TABLA R-1	Frecuencia de Mutación en el Locus HGPRT
TABLA R-2	Frecuencia de Variación de Linfocitos T Resistentes a 6-Tioguanina en Personas Supuestamente Expuestas a Radiación Ionizante.
TABLA R-3	Intervalo de Confianza del 95% para las Razones entre Vfs, de Individuos Expuestos en Relación con la Mediana y los Valores Mayores de los Controles. <i>de individuos Control y Expuestos a Radiación Ionizante</i>
FIG. R-1	Comparación de los Indices de Merceje (LI_c) entre los Individuos Control y Expuestos.
FIG. R-2	Comparación de los Vfs entre Individuos Control y Expuestos.
FIG. R-3	Vfs e Intervalos de Confianza del 95% en Individuos Control y Expuestos a Radiación Ionizante.
TABLA D-1	Aplicación de la Prueba de Mutagenicidad por Exposición a Radiación.

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

La determinación de daño genético en linfocitos humanos de sangre periférica puede hacerse midiendo aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y la presencia de micronúcleos (23). Sin embargo, hace falta una prueba para medir mutaciones en locus específicos ocurridas in vivo en humanos. En 1979 Strauss y Albertini propusieron un método que permite la cuantificación de la frecuencia de linfocitos T (T-lys) resistentes a 6-tioguanina (TG^R) presentes en la sangre periférica. La resistencia a tioguanina (TG^R) es producida por una mutación específica en el locus de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HGPRT). Esta enzima cataliza la fosforilación de las purinas hipoxantina y guanina para la formación de nucleótidos para la síntesis de ácidos nucleicos en una vía metabólica llamada vía de ahorro de purinas. Esta enzima también puede catalizar la fosforilación de análogos de purina como 8-azaguanina y la 6-tioguanina (6-TG), cuyos nucleótidos inhiben la proliferación celular. En un cultivo de corta duración en presencia de fitohemaglutinina

y de alguno de estos análogos, los linfocitos T con funcionamiento normal de la enzima HGPRT no son capaces de realizar la síntesis de ADN, mientras que los T-lys deficientes en esa enzima como resultado de una mutación somática, son resistentes al análogo y pueden sintetizar su ADN. Si agregamos timidina tritiada (^3H -tdr) a los cultivos, se puede contar a las células mutantes (es decir TG^r) mediante autorradiografías.

El interés que representa el poder determinar las mutaciones ocurridas en un locus específico, in vivo, en linfocitos humanos de la sangre, nos llevó a incluir esta prueba en la batería de ensayos de corto plazo para monitorio en humanos (31), por lo que se hizo la determinación de las frecuencias de células variantes (Vf) en 18 individuos sanos (26).

Debido a que la radiación ionizante es un agente capaz de causar daño al ADN a diferentes niveles, se eligieron cinco individuos involucrados en accidentes radiactivos para evaluar la sensibilidad de la prueba para detectar la exposición in vivo a radiación ionizante.

O B J E T I V O S

- Validar el uso del método de resistencia a 6 - tio
guanina en linfocitos-T en la detección de mutacio
nes génicas ocurridas in vivo.
- Determinar la frecuencia de mutaciones en el lo -
cus HGPRT en individuos expuestos accidentalmente
a radiación ionizante.

I N T R O D U C C I O N

La Radiactividad y sus Tipos

Los hallazgos de Roentgen sobre los rayos X, de Becquerel sobre el uranio y Marie Curie con el descubrimiento del polonio y el radio, sentaron las bases para el conocimiento de la radiactividad.

La radiactividad se define como la desintegración espontánea de los átomos de ciertos elementos con la producción simultánea de rayos: alfa, beta y/o gamma.

La radiactividad por la emisión de partículas, lleva a la conversión de un elemento en otro y se produce en forma espontánea en los elementos radiactivos.

Se llama radiación ionizante a la radiación que tiene la capacidad de ionizar la materia y que lleva energía - que al ser transmitida produce cambios en las propiedades químicas de la materia que la recibe.

Existen isótopos estables, es decir, elementos que se produjeron al formarse la tierra, que no se han transformado en otros elementos, y los isótopos inestables o radiactivos, que son aquellos que ~~con cierta rapidez~~ sufren cambios, siempre con emisión de radiaciones. Estos elementos no sólo se encuentran en forma natural, sino que se producen artificialmente. ~~Lo que sucede cuando un núcleo radiactivo decae, ya que no puede desaparecer por que tiene masa y carga eléctrica,~~ es que se transforma en otro ~~núcleo~~ al emitir partículas alfa, beta o rayos gamma.

Una partícula alfa se forma de dos protones y dos neutrones; el nuevo isótopo después de esta emisión se ve disminuido en su número ~~de partículas~~ ^{atómico}.

El decaimiento beta implica la emisión de una partícula

Protones

Es posible
No puede
emitir cargas
negativas, ya que
esta compuesto
por protones y
neutrones

beta, que ~~tiene la masa de~~ un electrón, pero que puede tener carga positiva o negativa. Como la masa del electrón es 1840 veces más pequeña que la de los nucleones, la emisión beta no implica cambio en nucleones (A). Sin embargo el número de protones (Z) sí cambia. Si un núcleo emite una beta negativa, al perder una carga negativa, gana una positiva y su Z aumenta; en cambio, si emite una beta positiva o positrón, disminuye Z. El decaimiento beta siempre va acompañado de la emisión de una nueva partícula, el neutrino, que no tiene carga ni masa, pero que sí comparte la energía sobrante con la beta.

El decaimiento gamma es un mecanismo que tienen los núcleos para expulsar energía, cuando sobra ésta después de un decaimiento alfa o beta. Esta expulsión es en forma de fotón, que es la unidad de radiación electromagnética.

El decaimiento más violento es la fisión nuclear en que un núcleo se divide en dos partes casi iguales y los fragmentos salen con gran velocidad; este proceso puede inducirse en laboratorios y los fragmentos obtenidos son muy inestables por lo que decaen por emisiones beta o gamma. (34)

NO
de beta
emite



UNIDADES DE RADIACION

Para estudiar y entender los efectos de la radiación ionizante en los sistemas biológicos se han propuesto unidades distintas de radiación (TABLA I.1) y se han definido terminos necesarios para explicar los efectos de la radiación sobre la materia viva (Cuadro I.1)

son de la tabla y cuadro

⁴ (5, 11, 20)

Con ^{Propósito} objeto de establecer los límites de seguridad la Comisión Internacional de Radioprotección, estableció que los trabajadores involucrados con material radiactivo no deben exponerse a ⁵ dosis mayores de 50 mSv (5 rem) anuales de irradiación uniforme de cuerpo entero y para la población en general la dosis recomendada anual es de 5 mSv (0.5 rem). (40, 44).

TABLA I-1 DEFINICION DE UNIDADES Y CANTIDADES DE RADIACION

NOMBRE SISTEMA INGLES	USADO PARA MEDIR	DEFINICION	NOMBRE ANTIGUO	UNIDADES QUE LA DEFINEN	EQUIVALENCIA
Becquerel (Bq)	Actividad	Número de transformaciones nucleares que ocurren en una cantidad determinada de material por unidad de tiempo.	Curie* (Ci)	3.7×10^{10} desintegraciones por segundo	1 Ci = 3.7×10^{10} Bq.
Roentgen (R)	Exposición	Es la suma de cargas eléctricas de los iones de un signo producido por unidad de <u>unidad</u> en el aire bajo condiciones definidas.	Roentgen (R)	Cantidad de exposición a la radiación X o gamma, necesaria para que la emisión corpuscular asociada, pueda producir una carga de una unidad electrostática en iones de uno y otro signo por 1.293×10^{-3} g de aire - (2.58×10^{-4} coulomb/kg).	1 R = 2.58×10^{-4} coulomb/kg
	Dosis	Es la cantidad de energía depositada en un tejido o célula sin considerar el tiempo.			
	Dosis Estimada	Es la cantidad de energía por unidad de tiempo.			
Gray (Gy)	Dosis Absorbida	Es la energía de radiación impartida por unidad de masa en un lugar específico del material irradiado.	Rad*	100 erg/g ó 0.01 joule/kg	1 rad = 10^{-2} Gy
Sievert (Sv)	Dosis Equivalente	Cantidad de energía necesaria para producir en 0.01 g de material, el mismo grado de daño que una radiación de referencia. De este concepto se derivan varios factores de modificación, ya que esta dosis es el producto de la dosis absorbida y los factores de modificación.	rem*	100 erg/g	1 rem = 10^{-2} Sv

*Aunque la 15a. Conferencia de Pesas y Medidas de 1975, le ICRU recomendo el abando gradual de estas unidades especiales de radiacion, cambiando las por las unidades internacionales y para tal efecto propone un periodo no mayor de 10 años a partir de 1975, en la actualidad siguen siendo usadas.

Path. Referencias

CUADRO I.1 FACTORES INVOLUCRADOS EN LA EVALUACION DE LA DOSIS DE EXPOSICION

Equivalente de Dosis:

Correlaciona la dosis absorbida con el posible efecto biológico en el hombre, el nombre específico de la unidad de equivalente dosis es el de Sievert (Sv); siendo $1 \text{ Sv} = 100 \text{ rem}$ (11,20)

Factor de Calidad (QF):

*no de
entende?*

Es un factor por el cual la dosis absorbida se multiplica por la cantidad de variabilidad efectiva de diferente tipo de radiación. Para los rayos X, gamma y partículas beta y electrones es de 1.0, para las partículas alfa es de 10 y para los neutrones y protones de 10 MeV el factor es de 10. (5,11)

Efectividad Biológica Relativa (REB):

Se define como la relación entre la dosis en rads para producir un efecto determinado con una radiación conocida y la dosis en rads para producir un cierto efecto con una radiación que se investiga. (5,11)

Transferencia Lineal de Energía (LET):

Es el número de pares de iones producidos por unidad de recorrido (5,11)

Factor de Distribución de Dosis (DF):

Es un factor que expresa la modificación de efectos biológicos debidos a la distribución no uniforme de la depositación interna de radionucleótidos (20).

FUENTES DE EXPOSICION A RADIACION

Son de dos tipos 1) radiación natural y 2) provocada por el hombre.

La primera proviene de a) radiación cósmica, b) radiación directa de los radioisótopos naturales y c) radiación de los radioisótopos naturales que se acumulan en el cuerpo al consumir alimentos, beber agua y aun por inhalación. El promedio de dosis que llega de estos tres componentes es de 90 mrad/año, en tejido gonadal y médula ósea. (40) ✓

La radiación provocada por el hombre proviene de fuentes diversas como son: la terapéutica, ocupacional, productos de pruebas nucleares, accidentes y/o contaminación. AA

Las fuentes de radiación anteriores contribuyen en 25 mrem/año por exposición médica de pacientes; menos de 1 mrem/año por exposición profesional a radiación y sustancias radiactivas; 4 mrem/año en 1970 de pruebas nucleares y pequeñas dosis de otras fuentes de contaminación y 1 - 2 mrem/año de conductores radiactivos e inventos electrónicos (47) ✓.

EFFECTOS DE LAS RADIACIONES IONIZANTES SOBRE LA MATERIA ORGANICA:

Las radiaciones que pueden producir efectos biológicos, se clasifican como no ionizantes y ionizantes, las segundas incluyen a los rayos X, las radiaciones gamma, las partículas alfa, beta, protones y neutrones, y se caracterizan por que al interferir con la materia desplazan electrones en sus orbitas, que ionizan a su vez otros átomos, después de varias colisiones los electrones pierden su velocidad o energía y son capturados por un átomo produciendo así un ion químicamente reactivo o radicales libres. Las partículas alfa, protones y neutrones, son mas ionizantes, lo que significa que producen mayor cantidad de pares de iones en un volumen dado, que los rayos X o gamma.

A la cantidad de energía depositada o el número de ionizaciones producidas por una trayectoria línea se denomina transferencia lineal de energía (LET), no es la misma para todas las partículas, ya que algunas radiaciones ionizan mas densamente que otras, por lo que son conocidas como de alto LET, como son las partículas alfa y protones, su energía de depositación es alta, por

lo que tiene una gran efectividad, pero su poder de penetración es bajo, ya que ceden rápidamente su energía y causan gran daño, mientras que las radiaciones de bajo LET como son los rayos X y gamma, tienen un alto poder de penetración y son eléctricamente neutras (10, 45, 23).

Las interacciones de la radiación con los tejidos hasta producir un daño, se han secuenciado en:

Reacciones Elementales: La energía de la radiación ionizante produce excitación y ionización de las moléculas con la^s que se encuentra en su trayectoria. Estas reacciones son esencialmente físicas y requieren de 10^{-17} a 10^{-5} segundos; las moléculas ionizadas o excitadas son muy inestables y reactivas. Es necesario hacer notar que sustancias químicas muy reactivas, como el ozono, causan el mismo efecto.

Reacciones Primarias: Los radicales y moléculas excitadas, que se formaron a partir de las reacciones elementales, reaccionan entre ellas o con otras moléculas, en reacciones esencialmente químicas llevados a cabo en segundos, minutos o algunas horas.

Reacciones Secundarias: El rearrreglo de moléculas que sigue a las reacciones primarias, causa interacción entre macromoléculas biológicas. Estas reacciones se completan en algunos días, aunque sus efectos pueden tardar años en expresarse (13, 39).

El efectos de las radiaciones se manifiesta mediante dos mecanismo:

1) La Acción Directa: Cuando las ionizaciones o excitaciones se producen en la molécula que se analiza, en este caso en el ADN

2) La Acción Indirecta: Que se lleva a cabo a través de los radiacões libres inducidos que son los responsables de las transformaciones de la molécula del ADN (10, 24). (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50)

En este caso el ataque se produce por la disociación del agua, ya que en la mayoría de los tejidos y células se encuentran en un 70 a 95% (12, 13, 22).

El mecanismos de acción es como sigue:



La generación de un ion positivo H_2O^+ y uno negativo H_2O^- que en presencia de otras moléculas de agua se descomponene en un ión y un radical libre, que no contiene grandes cantidades de energía pueden recombinar-

se y formar agua pero los radicales OH^\bullet y H^\bullet son muy reactivos (11,13[✓]), porque contienen electrones impares y son altamente inestables, ^{originalmente?} llevando una amplia variedad ^{de.} reacciones químicas en las moléculas orgánicas de la célula como en el ADN (11, 24, 46[✓]).

EFFECTOS DE LA RADIACION IONIZANTE EN ESTUDIOS EXPERIMENTALES

Los estudios sobre los efectos de la radiación en animales han mostrado que el daño por radiación depende de la cinética de proliferación normal y postradiación de cada tejido. Los tejidos con proliferación rápida tal como la médula ósea exhiben el daño ^{poco tiempo} pronto después del tratamiento. Los tejidos con proliferación lenta tales como el conectivo y el vascular, no muestran cambios serios hasta semanas o años después de la radiación. Con exposiciones agudas simples, la médula ósea es uno de los tejidos más críticos. Para animales de tamaño similar al hombre la DL_{50} es de 2-3 Gy y no hay evidencias de que la respuesta humana sea diferente. Sin embargo la médula ósea, como muchos otros tejidos, es capaz de una considerable repoblación, entre dosis fraccionadas o durante la irradiación continua con dosis bajas. Las observaciones en ratones indican que el tratamiento diario con el 5% de la DL_{50} puede ser tolerado por períodos largos. Extrapolando a animales grandes, éste sería 0.1 Gy/día. En este nivel de dosis continua, el tejido más afectado es el reproductivo, el tratamiento continuo con 0.0006 Gy/día produce esterilidad en perros machos, los testículos de ratón son más resistentes, siendo 0.02 Gy/día la dosis más baja reportada como causa de esterilidad permanente.

Otra estructura sensible a los efectos de la radiación es el cristalino del ojo, dosis de 2-5 Gy ocasionan opacidad en el cristalino si se dan en un solo tratamiento, pero se necesita más de 10 Gy si el tratamiento es fraccionado. Diversos reportes señalan que ^{existen} otros tejidos con más resistencia y mayor capacidad de reparación de modo que son capaces de tolerar dosis mayores, ya sea suministradas en forma continua o fraccionada (Tabla I:2) (13)

TABLA 1:2 DOSIS UMBRALES EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION*

TEJIDO	EFFECTO	DOSIS UMBRAL (Gy)	IRRADIACION CONTINUA O FRACCIONADA (Gy)
PIEL	ERITEMA	-7	10
ESOFAGO	DL ₅₀	20	50 EN 10 FRACCIONES
TRACTO GASTRO- INTESTINAL	DL ₅₀	8-15	2 Gy POR DIA
CARTILAGO Y HUESO	REDUCCION	1 Gy PRODUJO 3-5% DE RE - DUCCION	
CORAZON	FIBROSIS Y MUERTE	20	
PULMON	DL ₅₀	10	50 EN 30 FRACCIONES
HIGADO	CAMBIOS HISTOLO - GICOS	10	30-60 EN 10-20 - FRACCIONES
RIÑONES	VARIOS	5-15	LIMITADO POR FRAC - CIONES
S.N.C.	CAMBIOS NEUROLOGICOS FISTOLOGICOS Y PARALISIS	3 15	100 EN 60 FRACCIONES
TIROIDES	DISFUNCION	10	40-100 CONTINUAS
PITUITARIA	PERDIDA DE PESO	1-6 EN LOS JOVE - NES. DOSIS MUY - GRANDES EN ADUL - TOS.	
ADRENALES	PERIDAD DE PESO DE - LA GLANDULA Y CAMBIOS PERMANENTES	20	
TESTICULOS	ESTERILIDAD	3-10	0.0012-0.0006 Gy/DIA
OVARIO	REDUCCION EN CELULAS REPRODUCTIVAS Y FER - TILIDAD.		2-5 FRACCIONES
OJO	OPACIDAD DE CRISTALINO	3-5	11-14 FRACCIONES
HEMATOPOYETICO	DL ₅₀ DISMINICION CELULAR	2-15	0.5 Gy/DIA

*Cuadro elaborado con información obtenida de: Curso de Radiobiología del Instituto Peruano de Energía Nuclear impartido por: Susana Gonzales Villalobos en Universidad Peruana Cayetano Heredia. (1985)

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LA RADIACION IONIZANTE EN EL HOMBRE:

La información que se tiene sobre los efectos biológicos de la radiación se han obtenido de estudios efectuados en: a) pacientes que recibieron rayos X o radioisótopos, b) de personas expuestas profesionalmente o involucradas en accidentes y c) miembros de una población que han sido afectados por la explosión de una bomba atómica. Esta información ha sido ampliada por experimentos en animales.

Efectos de la Radiación en la Salud

Los efectos de la radiación en la salud dependen de varios factores como son: tipo de radiación, tiempo de exposición, dosis y sensibilidad de los tejidos que fueron radiados. Los efectos pueden dividirse en somáticos y reproductivos. (47) ✓

Efectos Somáticos

Estos efectos se observan relativamente rápido en individuos radiados (efectos tempranos o a corto plazo) o después de un periodo de pocos meses o años (efectos tardíos o a largo plazo). Una dosis de 1000 rads en una parte del cuerpo, muestra sus efectos a corto plazo que

pueden incluir la muerte en semanas. Dosis entre 100 y 1000 rads en todo el cuerpo pueden en poco tiempo originar daños o muerte de una porción del cuerpo o del tejido expuesto.

Los efectos a dosis agudas pueden observarse después de la radiación en gran parte del cuerpo. Hay ^{un} periodo de latencia después del cual se inician síntomas de malestar, pérdida del apetito y fatiga. El tiempo en que se inician es inversamente proporcional a la dosis recibida. Al fin de este periodo de latencia ocurren enfermedades por la destrucción de la médula ósea, males gastrointestinales asociados con diarreas y hemorragias, daños en el sistema nervioso central, descamación, dermatitis, esterilidad y en casos extremos sobreviene la muerte.

A largo plazo aproximadamente 5 a 10 años después de recibida la dosis, el efecto de mayor impacto es el cáncer fundamentalmente, la leucemia, aunque también se han reportado datos de incremento en la incidencia de cáncer pulmonar y tumores sólidos (11,13,14).

Efectos Reproductivos

Estos pueden ser anomalías congénitas en la generación

inmediata o incremento de abortos espontáneos o incremento en la incidencia de algún tipo de cancer como el de tiroides, leucemias, etc. en los productos de las madres irradiadas.

Estos efectos son el resultado de mutaciones génicas que surgen en células germinales de individuos irradiados y se considera que pueden hacerse aparentes en sus descendientes pero a menudo se requiere de más generaciones para que se manifiesten.

A pesar de carecer de una información cuantitativa directa sobre la sensibilidad del embrión humano irradiado, se sabe que pequeñas cantidades de radiación representan un riesgo de efecto teratogénico en el hombre como en otras especies. Para minimizar el riesgo de irradiar accidentalmente a un embrión en estadio temprano particularmente sensible, la ICRP recomienda que los exámenes radiológicos de abdomen en la mujeres de edad reproductiva deben limitarse dentro de los 10 días siguientes a la menstruación. La causa de que existan pocos datos sobre efectos teratogénicos en humanos por la radiación se debe a la variabilidad en la susceptibilidad de los animales y el estado de desarrollo del embrión en el momento de la radiación, por esto no es

posible estimar con precisión el riesgo que representa la exposición a radiación por el feto humano.

Los estudios de efectos teratogénicos asociados con el incremento en los niveles de radiación ambiental aportan resultados inconclusos (11,13, 47).

Cabe señalar que aún existen deficiencias en el conocimiento de los efectos reproductivos de la radiación y que algunos de los efectos postulados se han deducido de los encontrados en animales de experimentación más no han sido demostrados en el humano.

La población más extensa que ha estado expuesta a estas dosis de radiación fué la de Hiroshima y Nagasaki, los efectos a corto plazo en los sobrevivientes han quedado bien definidos (Tabla 1.3). En cuanto a los efectos a largo plazo ha quedado demostrado que la frecuencia de cancer específicamente leucemia y linfoma es mayor que en la población japonesa que no estuvo expuesta.

En los estudios realizados en los hijos de los individuos expuesto a la bomba atómica, no mostraron evidencias de mortalidad debido a mutaciones dominantes letales; la frecuencia de anormalidades de los cromosomas -

sexuales en los hijos de los individuos expuestos fue de 0.28% mientras que en los controles fue de 0.26% - esta diferencia no es estadísticamente significativa. Generalmente los rearrreglos estructurales observados en los autosomas fueron producto de intercambios reciprocos, translocaciones robertsonianas o inversiones pericentricas y paracentricas, en la mayoría balances, estables y sin cambio en el fenotipo. Estudios preliminares en la F_1 mostraron un número considerable de individuos con trisomías, específicamente trisomía 21 o Síndrome de Down.

Cabe señalar que entre los individuos expuestos se ha reportado una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en sus linfocitos, sin embargo no he podido encontrarse a pesar de haberse buscado ampliamente, un efecto reproductivo que se haya puesto de manifiesto en los hijos de los individuos expuestos (4, 5).

TABLA I-3 SINTOMAS Y SIGNOS CLINICOS DEL DAÑO POR RADIACION EN LOS SOBREVIVIENTES DE HIROSHIMA Y NAGASAKI*

GRADO DE SEVERIDAD	PRIMERA SEMANA	SEGUNDA SEMANA	TERCERA SEMANA	MUERTE
Muy Severo + 5000 rad cuerpo en tero	Náuseas, Vómitos, Fiebre, Apatía, Delirio, Diarrea, Leucopenia, Lesiones Orofaríngeas	Fiebre, Leucopenia, Anemia, Depilación, Decaimiento, Diatesis, Hemorragias	Muerte	100%
Severo 1000 a 5000 rads	Nauseas, Vomitos, Anorexia, Fatiga	Fiebre, Leucopenia, Anemia	Anorexia, Decaimiento, Fiebre, Diarrea, Depilación, Lesiones Orofaríngeas, Diatesis hemorrágica, Leucopenia, Anemia	50%
Moderadamente Severo 300 a 1000 rads	Síndrome Gastrointestinal	Leucopenia	Anorexia, Decaimiento, Fiebre, Diarrea, Depilación, Lesiones Orofaríngeas, Diatesis hemorrágica, Leucopenia, Anemia	Menos del 10%
Leve 300 rad	Síndrome Gastrointestinal (en muy baja proporción)	Leucopenia	Fiebre, Depilación, Lesiones Orofaríngeas, Diatesis hemorrágica, Leucopenias	No murieron

Quadro elaborado con la información de: Susana Gonzalez Villalobos responsable del

*Curso de Radiobiología, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Centro Superior de Estudios Nucleares, (1985).

ORGANOS CRITICOS Y EFECTOS ESPECIFICOS EN TEJIDOS

Los organos y tejidos mas sensibles son los gonadas - (disminución de la fertilidad y daño genético), los organos hematopoyéticos, especialmente la médula ósea (leucemia) y el ojo (catarata).

En la piel y mucosas, la radiación cause reacciones transitorias días despues de la exposición se observa, constricción de vasos sanguíneos y edema subcutaneo sin efecto sobre la epidermis; a dosis elevadas esta reacción es seguida por descamación seca o húmeda o hasta necrosis. Algunas veces aparecen quemaduras; si se daña la dermis, meses o años despues se puede observar fibrosis profunda, contracción del área irradiada o deposición incrementada de colágeno, lo que conduce a ulceración y necrosis, despigmentación y depilación.

Todos estos efectos se ven modificados por la edad del paciente, balance hormonal y localización anatómica; pero se ha observado que a mayor área o volumen irradiado mayor daño.

El daño gastrointestinal conduce a síntomas agudos y crónicos que ^{van} desde diarreas y dispepsia a úlceras;

a lo largo del tracto digestivo varía la radiosensibilidad. Las porciones más sensibles son el estómago, intestino delgado y colon; el estómago puede presentar ulceraciones, las lesiones son reversibles hasta 40 Gy a dosis mayores las lesiones son crónicas presentándose obstrucciones, constricciones y adhesiones. En el colon el daño temprano produce diarreas el primero o segundo mes y el daño tardío se expresa como fibrosis y lesiones vasculares. El intestino delgado presenta modificaciones en la absorción de los alimentos y como la flora intestinal se daña se presentan las heces poco compactas.

Los huesos y cartilagos en crecimiento son más sensibles a la radiación que en los adultos, a dosis de 10 Gy en 6 dosis diarias por semana se observan cambios radiográficos en pacientes jóvenes, 12-20 Gy producen cambios severos en niños hasta de 6 años, causándose retraso o cese del crecimiento.

En huesos la dosis que produce necrosis es difícil de determinar ya que la dosis absorbida depende del contenido mineral y de la energía de la radiación incidente. El pulmón es el órgano más sensible del torax, a pesar de

tener gran reserva funcional y capacidad de regeneración, la dosis que tolera de radiación única de cuerpo entero durante varias horas es de 8 Gy, el primer efecto es neumonía que puede seguirse por fibrosis; la reacción es compleja e involucre muerte celular, descamación de células del endotelio, exudación dentro del espacio alveolar, adelgazamiento de pared alveolar y cambios en el colágeno con calcificación y osificación.

En el hígado ²² dosis de 40 a 50 Gy en 30 días son toleradas, las lesiones características son: descamación de células epiteliales, fibrosis y esclerosis.

^{en relación al} El sistema urinario, el riñón es muy sensible por su complejidad y sufre una variedad de alteraciones funcionales después de ser irradiado, como ^{son la} nefritis aguda o crónica, hipertensión y proteinuria. La estenosis de los uréteres es una complicación de la irradiación pélvica. La nefritis aguda ocurre de 6 a 12 meses después y puede ser letal o convertirse en crónica; se presentan cambios glomerulares, tubulares y capsulares. La nefritis crónica se caracteriza por esclerosis y fibrosis.

Una dosis fraccionada de 20-24 Gy en 3 semanas reducen -

el flujo de plasma renal entre 10 y 60% y reduce la filtración glomerular. Poco se sabe sobre efectos en la próstata, pero los efectos tardíos pueden incluir: obstrucción, incontinencia e impotencia.

El sistema nervioso central fue considerado como radioresistente, sin embargo se sabe en la actualidad que puede causarse la parálisis que se presenta de los 3 meses a los 9 meses después de la radiación. Ocasionalmente después de una dosis de 60 Gy fraccionados se observa un proceso de desmielinización, lo cual puede ser transitorio o letal.

El cerebro entero tolera 55 Gy fraccionados en 5-6 semanas pero para regiones pequeñas, dosis de 65 Gy fraccionados conducen a una necrosis. El umbral para la producción de cambios morfológicos es de 40 Gy fraccionados aproximadamente.

La médula espinal tolera una dosis de 35 Gy en 4 semanas a 50 Gy en 5 semanas, sin embargo meses o años después puede presentarse desmielinización difusa, encefalitis, cambios en la memoria y debilidad.

En las gonadas, el ovario es altamente radiosensible, su contenido de células germinales no puede remplazarse en caso de disminución, una pérdida de ovocitos conduce a

esterilidad total, a dosis de 3.2 a 10 Gy en dosis única. La radiosensibilidad depende del grado de madurez siendo más resistentes las mujeres jóvenes. Las testículos dosis de 0.1 a 0.15 Gy se presenta esterilidad temporal y disminución de espermatozoides; más de 2 Gy causan esterilidad permanente.

Las diferentes partes del ojo tienen diferentes sensibilidades. En el cristalino dosis de 2 Gy producen cataratas.

El sistema hemtopoyético, es el tejido más sensible, sus efectos se ven entre 0.1 a 1 Gy.

La médula ósea se encarga de producir la mayoría de las células circulantes en la sangre como: linfocitos, granulocitos, eritrocitos y plaquetas.

Los linfocitos disminuyen a las pocas horas de la radiación, los granulocitos y las plaquetas días después mientras los eritrocitos se alteran semanas después.

La respuesta de los linfocitos depende de la dosis, si su disminución es severa, el paciente muere de pérdida de plaquetas. La muerte por síndrome hematopoyético es de 3 a 6 semanas después de la radiación que coinciden con el período de máxima disminución de elementos celulares de la sangre.

La radiación extracorporel de sangre humana para tratamiento de leucemia muestra que los eritrocitos y plaquetas son muy resistentes a la radiación, pero los linfocitos no. La dosis letal 50 (DL₅₀) para el hombre es de 3 a 5 Gy, pero el tratamiento en cámaras estériles con antibióticos, transfusiones y trasplante de médula

Esas, así como los cuidados médicos, posibilitan la recuperación de víctimas de accidentes radiactivos
(11,13)

TABLA I-4 EFECTOS DE LA RADIACION EN TEJIDOS ESPECIFICOS*

O R G A N O	DOSIS	E F E C T O		
		TEMPRANO	A MAYOR DOSIS	TARDIO
PIEL Y MUCOSAS	6-8 GY EN TRAMIENTO UNICO EN 5 cm ²	ERITEMA; CONGESTION EN VASOS SANGUI- NEOS EDEMA SUBCUTA- NEO	DESCAMACION	DEPILACION DESPIGMEN- TACION
TRACTO DIGESTIVO				
ESTOMAGO	48" GY	DIARREAS DISPEPSIA	ULCERACION PERFORACION	ULCERACION PERFORACION
INTESTINO DELGADO	40 Gy en 3-4 SEMANAS	REACCION AGU- DA DE MUCOSAS		OBSTRUCCION CONTRICCION ADHESIONES LESIONES CRONICAS
COLON	<30 Gy EN 3-4 SEMANAS			FIBROSIS LESION VA- CULAR
HUESO	10 GY EN 6 DOSIS DIA- RIAS POR SEMANA	CAMBIOS RA- DIOGRAFICOS EN PACIENTES JOVENES		
	12-20 GY	CAMBIOS DIVER- SOS EN NIÑOS MENORES DE 6 AÑOS		
PULMON	8 GY DOSIS DE CUERPO ENTERO	NEUMONIA SE- GUIDA DE FI- BROSIS		

O R G A N O

HIGADO

RIÑON

VEJIGA Y PROSTATA

SISTEMA NERVIOSO
CENTRAL
CEREBRO

MEDULA
ESPINAL

OVARIOS

TESTICULOS

OJO

DOSIS

40-50 GY EN 30 DIAS

23 Gy EN 5 SEMANAS

55-60 GY EN 20 FRAC
CIONES

60 GY FRACCIONADOS

55 GY FRACCIONADOS
6 SEMANAS

35 GY EN 4 SEMANAS A
50 GY EN 5 SEMANAS

1.7 A 6.4 GY UNICA

0.1 a 0.5 GY

~2 A ~4 GY DOSIS
FRACCIONADAS

E F E C T O
TEMPRANO A MAYOR
DOSIS

DESCAMACION
EPITELIO.
FIBROSIS
NEFRITIS,
HTPERTENSION
PROTEINURIA
REDUCCION DEL
10-50% FILTRA
CIONES GLOMERU
LAR, TUBULAR
Y CAPSULAR
OBSTRUCCION
INCONTINENCIA
IMPOTENCIA

PARALISIS
DESMIELINIZACION

CAMBOS
MORFOLOGICOS
MAREOS

ESTERILIDAD
TEMPORAL

ESTERILIDAD
TEMPORAL
DISMINUCION
ESPERMATOZOI-
DES

CATARATA
OPACIDAD DEL
CRISTALINO
ESTACIONARIA
MINIMA

TARDIO

ESCLEROSI
FIBROSIS

NEFRITS
AGUDA

DESMIELIN
ZACION LE
TAL
CAMBISO D
MEMORIA.
DESMILINI
ZACION, EN
CEFALITIS

NECROSIS

ESTERILIDAD
PERMANENTE

ESTERILIDAD
PERMANENTE

CATARATA
PROGESIVA

O R G A N O

DOSIS

E F E C T O
TEMPRANO A MAYOR
DOSIS

TARDIO

SISTEMA
HEMATOPOYETICO

0.5 A 1 GY

DISMINUCION
NUMERO DE
LEUCOCITOS

ANEMIA
SEVERA

LEUCEMIA

*Cuadro elaborado con la información obtenida de: Casarett A. Radiation
Biology. American Institute of Biological Sciences. Prentice-Hall Inc.
Englewood Cliffs, New Jersey.

ACCIDENTES EN PLANTAS NUCLEARES

Durante la década de los años cincuentas se inició la aplicación de la fisión nuclear para producir materiales radiactivos para ser utilizados en la producción de energía eléctrica y como combustible para naves espaciales.

La producción de energía en los reactores nucleares se controla utilizando agua o bloques de grafito que rodean al combustible (uranio) haciendo más lento el movimiento de los neutrones que se liberan para que sigan reaccionando con el uranio; la reacción se controla aun más con boro absorbente de neutrones en lo que se llama rodillos de control. Todo este sistema (el combustible y rodillos de control) constituye el corazón del reactor, por el que pasa un sistema de conducción de agua que, con el calor producido por las reacciones nucleares se evapora y este vapor se aprovecha para producir energía eléctrica. ^{EL} Esta agua, que llega fría, al mismo tiempo sirve para regular la temperatura en conjunto.

En el corazón de un reactor existen cientos de bloques de grafito que protegen cilindros de uranio y en cada uno se llevan a cabo las reacciones descritas; si éstas llegaran a quedar fuera de control el resultado es una

explosión atómica como las que producen las bombas con la consecuente liberación de radiación alfa, beta y gamma y contaminación de la zona por lluvia de elementos radiactivos producidos por la fisión de los núcleos de uranio, cesio, estroncio y yodo radiactivo (Tabla I.5). Los peores accidentes ocurridos en los que los afectados han sido cientos de trabajadores, en plantas de este tipo, son el de la Planta Windscale en la Gran Bretaña, en 1957 (6), el de la Planta Isla Tres Millas en Pensilvania en los Estados Unidos en 1979 (6,7) y el más reciente, el del Reactor Cuatro del Complejo Chernobyl en la Unión Soviética en abril 26 de 1986.

Este último accidente es el que ha recibido mayor atención de los medios de comunicación y por tanto, es el mejor documentado. Se ha podido establecer que el accidente se debió a un error humano durante una prueba de la capacidad de uno de los generadores de electricidad.

Para realizarla se disminuyó la potencia del reactor y se eliminó el funcionamiento del sistema de enfriamiento de emergencia. Esto llevó a una reactividad excesiva en el corazón del reactor que produjo sobrecalentamiento del sistema y evaporación excesiva del agua; el vapor se expandió y absorbió menos neutrones con el con-

secuente incremento de poder. Al tratar de parar la explosión, los técnicos que hacían la prueba trataron de insertar rodillos de control de boro, pero éstos tenían grafito en sus extremos que moderaron la reacción y desplazaron agua lo cual incremento el poder 100 veces más de la capacidad del reactor.

El uranio se desintegró, se derramó de sus contenedores de seguridad, entró en contacto con el agua y provocó una explosión de vapor que hizo volar el edificio de concreto que rodeaba el reactor, arrojando además bloques ardientes de grafito y de combustible. Pero también se elevó una nube ardiente de radiactividad hacia la atmosfera. Los vientos, las turbulencias atmosféricas, la gravedad y varios efectos de superficie hicieron que la nube se extendiera sobre Europa y Asia y através del Golfo de Alaska hasta la costa oeste de los Estados Unidos. El iodo 131 y el cesio 137 se liberaron hacia la atmosfera (Tabla 1.5); los habitantes del oeste de la Unión Soviética hasta Escandinavia pudieron recibir dosis de más de 10 mrem (lo cual no excede la dosis natural por año de 100 mrem). La mayor parte de la gente en Europa Central recibió entre 1 y 10 mrem (19). En Kiev, a 80 Km de Chernobyl, las dosis de radiación

reportadas a principios de mayo de 1986 fue de 0.05 a 0.8 mrem por hora, dosis considerablemente mayor que la radiación natural que es de 100 mrem/año.

Se ha planteado que un número elevado de soviéticos recibieron dosis peligrosas de radiación, dosis que variaron entre 200 y 1200 rads (21), 30 individuos fueron los más afectados y a algunos de ellos se les practicó transplante de médula ósea (32). Las consecuencias de este accidente en las poblaciones expuestas todavía están por conocerse, cabe señalar que la zona de la explosión y 30 kilómetros a la redonda se consideran inhabitables (18).

ACCIDENTE RADIATIVO EN CIUDAD JUAREZ, CHIHUAHUA, MEXICO: La negligencia y la ignorancia han sido el origen de otros accidentes lamentables que han llegado a dañar inadvertidamente a cientos de personas. Los equipos médicos como los rayos X y las unidades de terapia de cobalto son un riesgo latente y su mal uso ha afectado a médicos, enfermeras y personal que trabaja con ellos. En diciembre de 1983 la importación ilegal de una bomba de ^{60}Co para radioterapia, resultó en la contaminación radiactiva de numerosas personas en Cd. Juárez, Chihuahua. Los hechos en relación a este accidente fueron presentados por la Comisión Nacional de Seguridad Nuclear y Salvaguardias (37) y en su resumen son: El Centro Médico de Espe

cialidades S. A. de Cd. Juárez, Chihuahua, adquirió en noviembre de 1977 una unidad de teleterapia para tratamiento de cancer de la X-Ray Equipment Co. de Fort Worth Texas, E. U., esta unidad que contenía una fuente de cobalto 60 (^{60}Co) con una actividad de 1003 Ci, entró al país con permiso de importación, pero sin la autorización del Instituto Nacional de Energía Nuclear (INEN) que tiene la responsabilidad de autorizar y supervisar la posesión de materiales radiactivos.

Por no haberse puesto en funcionamiento la unidad, se almaceno en la bodega del Centro Médico de Especialidades de Cd. Juárez, desde noviembre de 1977 hasta diciembre de 1983 cuando un técnico de mantenimiento del Centro Médico desarmó la unidad y extrajo un cilindro de acero y tungsteno que contenía la fuente de ^{60}Co . También separó otras partes de la unidad que por su peso y por ser de metal se vendieron como chatarra; este material fue transportado a una fundidora.

El cilindro de acero que contenía 6000 gránulos de ^{60}Co antes de su entrega fue perforado en la camioneta en que se transportaba, de tal forma que los gránulos se esparcieron en ésta y en las calles por las que transitó. Al llegar al deshuesadero, muchos gránulos quedaron es-

parcidos por el suelo del patio. Para mover los objetos metálicos pesados, utilizan en ese sitio una grúa con electroimán; muchos granulos de cobalto fueron atraídos por él y así se mezclaron con trozos de metal. Con todo esto, los empleados del tiradero de la chatarra, el empleado que extrajo la unidad del Centro Médico y su ayudante recibieron fuertes dosis de radiación.

Una gran cantidad del material contaminado se vendió a la empresa fundidora Aceros de Chihuahua, S. A. en donde se fabrica varilla para construcción, bielas para motores y bases metálicas para mesas.

Por otra parte, la camioneta en la que se transportó y abrió el cilindro de acero que resguardaba el cobalto sufrió un desperfecto y quedó estacionada durante aproximadamente 58 días enfrente a la casa de su dueño, los vecinos también fueron expuestos a la radiación.

En enero de 1984, se exportó a Estados Unidos una cantidad de varilla y bases metálicas producidas con el material contaminado, el camión que transportaba estos productos, pasó cerca del laboratorio de Los Alamos en una zona donde hay varios detectores de radiación, el camión activó la alarma y las autoridades de Estados

Unidos al descubrir el origen del camión, notificaron a las autoridades mexicanas, ^{Las} que tomaron las medidas necesarias para reunir los gránulos de cobalto que ~~que~~ ~~estaban~~ diseminados en la fundidora y en las calles de la ciudad, así como ^{Para} reunir los productos procesados con terminados y enterrarlos en un cementerio de material radiactivo. Se ha calculado que ~~varias personas.~~ ~~personal~~ del tiradero de chatarra, choferes y obreros de la fundidora ~~tuvieron~~ exposición entre 200 mrem a 600 mrem. de éstos se evaluaron las aberraciones cromosómicas en 10 individuos encontrándose que dos personas estuvieron expuestas entre 550 a 390 rads y en el resto entre 366 y 13 rads (30).

Los efectos manifestados en estas personas fueron mareos, dolores de cabeza, descamación en pies y manos, oligospermia y en algunos casos quemaduras en la matriz de las uñas y baja cuenta de leucocitos (30).

TABLA I.5

ISOTOPOS CONTAMINANTES PRODUCIDOS EN
EXPLOSIONES NUCLEARES*

ISOTOPO	VIDA MEDIA	TEJIDOS DONDE SE CONCENTRA	TIPOS DE CANCER QUE PRODUCE
KRIPTON 85	10.7 AÑOS	AFECTA TODO EL CUERPO	AUMENTA LA INCIDENCIA DE LEUCEMIA EN 2 AÑOS
YODO 131	8 DIAS	SE CONCENTRA EN GLAN- DULA TIROIDES	CANCER DE TIROIDES RETARDO EN CRECIMIEN- TO EN NIÑOS
CESEO 137	30.2 AÑOS	AFECTA TODO EL CUERPO ESPECIALMENTE HIGADO, BAZO Y MUSCULO	
BARIO 140	12.8 DIAS	SE CONCENTRA EN HUESO	CANCER DE HUESO
ESTRONCIO 90	53 AÑOS	SE CONCENTRA EN HUESO	CANCER DE HUESOS RETARDO EN CRECIMIEN- TO EN NIÑOS

*Tomado de: Sagan, C. Cosmos. Cap. XIII, 2ª. Edición pp 320-322 (1982)

D O S I M E T R I A

La radiación ionizante en general produce los siguientes efectos:

- 1) Cuando la radiación choca con electrones o con los núcleos se produce la ionización.
- 2) Transmite energía a la materia. (calor).
- 3) Excita los átomos en su camino
- 4) En algunos casos desplaza átomos de su lugar.
- 5) Los átomos ionizados o desplazados pueden dar lugar a reacciones químicas.

Los detectores de radiaciones aprovechan algunos de estos efectos y pueden ser: físicos, químicos o biológicos. (34)

Dosimetría Física y Química.

Los dosímetros personales más comunes para registrar radiación son pequeñas placas fotográficas con abso-
rbedores para clasificar el tipo de radiación y medir su intensidad al revelar la película, pero tiene la desventaja de que ~~toma mucho tiempo el proceso~~ ^{es muy tardado}. Además, una vez revelada la película no es posible volver a usarla. (11, 20, 24)

Hay muchos compuestos químicos que al ser radiados presentan efectos visibles, que dependen de la dosis recibida; son cambios que se aprovechan como la coloración o la densidad óptica y que se miden en espectrofotómetro. (11, 20, 24)

Para detectar partículas alfa y protones, se utiliza el método traza, basado en que el vidrio, la mica y algunos plásticos cambian su estructura al ser radiados. Si se tratan con reactivos químicos apropiados, aminoran los puntos dañados por ser más fuerte el ataque químico en ellos y pueden observarse al microscopio. Esto los hace más útiles para medir pequeñas dosis de radiación y para medir radiación ambiental, pero son insensibles a rayos X, rayos gamma y electrones. (11)

La termoluminiscencia (TL) detecta radiaciones por largos períodos y en pequeñas cantidades; se basa en ^{la propiedad de} ~~que~~ los átomos de algunas sustancias como el fluoruro de litio, ^{que} al ser irradiados se excitan hacia estados ~~en los que~~ ^{que} almacenan energía de radiación ionizante. Para liberar esa energía se requiere calentar el cristal y la luz emitida es proporcional a la dosis de radiación recibida. También los cristales TL se ~~pueden~~ usar como dosímetros y una vez emitida la luz almacenada pueden volverse a usar. (20)

El electroscopio se usa como dosímetro personal para medir dosis acumuladas; al cargarse con una fuente de voltaje que es una fibra de cuarzo, se coloca en una posición determinada al recibir la radiación; la ionización ayuda a descargarlo y desplaza a la fibra, lo que se observa por una

lente: el desplazamiento depende de la cantidad de radiación recibida. (11, 37)

Estos detectores se caracterizan porque acumulan por un tiempo la información sobre la radiación y por algún método se pone de manifiesto.

La cámara de niebla es un recipiente con vapor sobreenfriado que se condensa con facilidad. El sobreenfriamiento se logra con nitrógeno líquido; al pasar una partícula, el vapor se condensa en los iones producidos y forman una gota en la trayectoria de las partículas, la cual se vuelve visible durante un instante mientras las gotas se difunden; la trayectoria se ve a simple vista. (2, 34)

En la cámara de burbujas se usa un líquido a punto de hervir en el que se forman burbujas con cualquier perturbación; generalmente se usa nitrógeno líquido o un líquido transparente para ver las burbujas formadas en la trayectoria completa de la radiación. Con este dosímetro se puede ver trayectorias de partículas de muy alta densidad.

Entre los detectores de respuesta instantánea están los de gas: Cámaras de ionización, Contadores proporcionales y Detectores Geiger-Muller. (34)

El gas que contiene se ioniza al pasar radiactividad; si se le aplica un alto voltaje, los iones y electrones se dirigen al cátodo y los electrones al ánodo, lo cual pro -

duce un pulso eléctrico muy corto que se amplifica y analiza.

El contador proporcional es similar a la cámara de ionización, pero ^{en este} se aplica un voltaje más alto y en el detector Geiger-Muller ~~más alto aún.~~ *el voltaje es aún mayor*

Otro detector de respuesta instantánea aprovecha el destello de la radiación en ciertas sustancias fluorescentes; si se coloca una pantalla fluorescente en presencia de radiación en la oscuridad se puede ver el destello que produce la radiación, de lo que se deriva el contador por centelleo.

El detector más usado es el de estado sólido: consiste en un cristal de silicio que tiene impurezas que le permiten conducir la electricidad, la radiación produce ionización y libera cargas que se colectan en un electrodo. Se usan de silicón para partículas cargadas y rayos X de germanio para rayos gamma. (TABLA I-6) (11, 20).

TABLA I:6

USOS DE LOS DIFERENTES DETECTORES DE RADIAACION*

PLACA FOTOGRAFICA	RAYOS X, β , ELECTRONES
TRAZAS	ALFA, PRODUCTOS DE FISION
TERMO LUMINISCENCIA	ALFA, BETA, ELECTRONES
ELECTROSCOPIO	BETA, ELECTRONES
CAMARA DE NIEBLA	ALFA, PROTONES, ELECTRONES
CAMARA DE BURBUJAS	PROTONES DE ALTA ENERGIA
GAS	BETA, ELECTRONES
CENTELLEO	GAMMA, RAYOS X
ESTADO SOLIDO	ALFA, RAYOS X

*Tomado de: Rickards C. J. La Ciencia desde México-8 pp. 57 (1986)

DOSIMETRIA BIOLOGICA

La dosimetría biológica es la estimación cuantitativa de la dosis de radiación ionizante que ha sido absorbida por un individuo y que es medida en función de sus efectos biológicos (13, 27).

Diversos estudios (31, 42) entre los que sobresalen los de Bender (8, 96) en 1957 han mostrado que las radiaciones in vitro pueden causar aberraciones cromosómicas y que existe una relación dosis efecto en la inducción de aberraciones. En 1964 Bender reportó que las frecuencias de lesiones cromosómicas radioinducidas en cultivos de linfocitos que habían tenido una exposición reciente a radiación gamma y neutrones, mostraba una buena correlación con las aberraciones inducidas en cultivos de sangre humana irradiados in vitro (8).

En base a estas observaciones se consideró en utilizar el análisis de lesiones cromosómicas radioinducidas en linfocitos humanos como un método para medir exposición a radiación.

La primera aplicación rutinaria de la determinación de dosis de exposición en base a la evaluación de daño cromosómico se llevó a cabo en 1969 en la Unidad de Citogenética.

tica de la National Protection Board, U.K donde se estimó la dosis recibida por 390 personas.

En 1979, en el laboratorio de Citogenética de Oakridge National Laboratories, se ofreció por primera vez la dosimetría citogenética para personas que hubieran estado expuestas a radiación en su lugar de trabajo; estableciéndose el Centro de Asistencia para Emergencias Radiactivas (REACTS/TS). En este centro han demostrado (23²⁴) en la actualidad en diferentes países la industria nuclear posee programas para evaluar la exposición de sus trabajadores habiéndose reportado que a través de varios años solo se ha presentado un pequeño incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas (23²⁴).

Se han realizado estudios comparando las dosis determinadas por métodos físicos y por daños cromosómicos en individuos expuestos por prescripción médica, así como en individuos involucrados en accidentes radiactivos encontrándose entre ambos una relación muy estrecha (46).

EVALUACION DEL DAÑO CROMOSOMICO

Las radiaciones producen diferentes tipos de aberraciones cromosómicas estructurales, las cuales se clasifican de acuerdo al tipo de daño cromosómico que se produce y este a su vez depende del período del ciclo celular en el que se produce la exposición.

Ciclo Celular

La mayor parte de su vida la célula permanece en interfase, período en el que duplica su masa y se replica el ADN. Este período puede a su vez dividirse en cuatro períodos: G_1 es el tiempo entre el final de la mitosis y el comienzo de la síntesis de ADN, S es el período de síntesis de ADN y G_2 el período entre el final de la síntesis y el comienzo de la mitosis. Cuando la célula ^{deja} ~~debe~~ de dividirse, se detiene en un punto específico de G_1 y sale del ciclo en el período llamado G_0 .

La mitosis en el caso de las células somáticas, es un mecanismo que permite a la célula distribuir en cantidades equivalentes los componentes duplicados durante la interfase. La profase, metafase, anafase y telofase se caracterizan por cambios morfológicos que tienen lugar en el

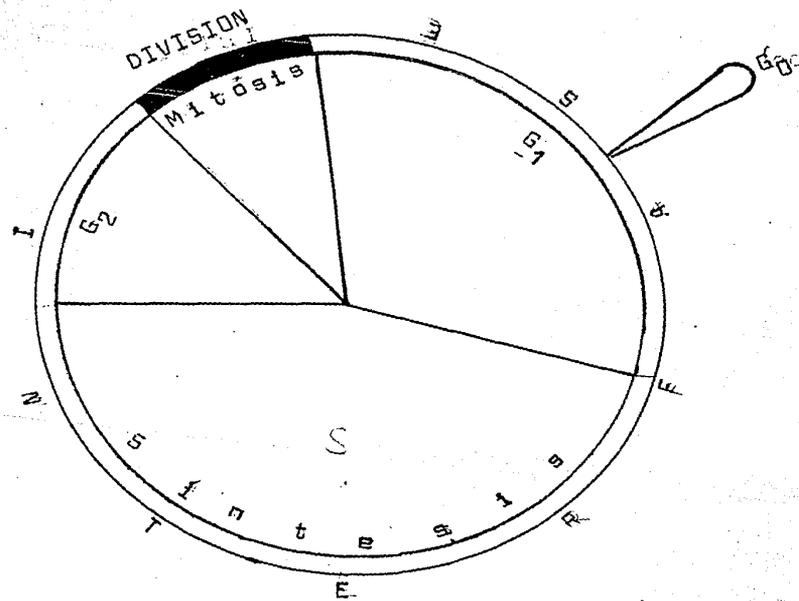


FIG. I.1 C I C L O G E L U L A R

núcleo y en el citoplasma.

En la profase, los cromosomas aparecen como delgados filamentos que se condensan por enrollamiento y plegamiento.

Cada uno de ellos se escinde en dos cromátidas, que constituirán los futuros cromosomas hijos. Al condensarse, cada cromátida se observa el centromero. La membrana nuclear tiende a desintegrarse y desaparece al finalizar la profase. El huso se forma en el citoplasma, entre los ésteres que se mueven hacia los polos. Los centriolos se duplican en la interfase, durante el período de S.

Al comenzar la metafase (prometáfase) la envoltura nuclear se desintegra y el nucleoplasma se mezcla con el citoplasma. Los cromosomas se unen a los microtubulos del huso y se orientan en la placa ecuatorial. En la anafase los cromosomas hijos precedidos por el centromero se mueven hacia los polos. Las fibras del huso se acortan hasta alcanzar la tercer o quinta parte de su longitud original.

Durante la telofase los cromosomas se condensan, la envoltura

nuclear se forma nuevamente a partir del retículo endoplasmico y el nucleolo reaparece.

En las células animales se forma una constricción a nivel del ecuador, separandose finalmente las células hijas. (FIG: 1.1) (15).

TIPOS DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS

Tipo Cromosómico

Se produce durante la fase de G_0 v G_1 , así el daño se duplica durante la fase S y se expresa en la metafase. Este es un daño simétrico ya que afecta a las dos cromátidas. Pueden dividirse en estables o inestables.

A) Estables: Permanecen a través de las divisiones celulares sucesivas. A esta categoría pertenecen las inversiones y translocaciones, las inversiones pericéntricas y translocaciones no son utilizadas como dosímetros biológicos, ya que son difíciles de detectar en preparaciones microscópicas convencionales y se requiere de técnicas de bandeado. (figuras 1.7 a-c, respectivamente).

B) Inestables: Son eliminadas en la primera división, las células con estas aberraciones al tratar de dividirse la estructura alterada ofrece dificultades para su correcta segregación. Estas se clasifican en:

B.1) Dicéntricos y Fragmentos Proviene de cambios inter cromosómicos asimétricos debido a la ruptura a nivel de dos o más cromosomas que se reúnen incorrectamente, de manera que se produce una estructura con dos centromeros y sus fragmentos acéntricos (figs 1.7 d).

B.2) Anillos Céntricos y Fragmentos Ocurren cuando en un intercambio asimétrico existen dos fracturas que aparecen en el mismo cromosoma de una y otra parte del centromero, resultando un rearrreglo incorrecto que forma el anillo que posee el centromero y un fragmento acéntrico (figs 1.7 e).

B.3) Acéntricos NO es fácil su identificación. La deleción terminal, en principio puede ser producida por el paso de un trazo ionizante en un cromosoma. Las deleciones intersticiales isodiamétricas o puntuales producen cromosomas diminutos o también forman anillos diminutos (figs 1.7 f respectivamente).

Tipo Cromatídico

Se producen al irradiarse las células después de la duplicación del ADN es decir en las fases S y G₂, por consiguiente son asimétricas. En estas solo se afecta a una sola cromátida. Se les puede denominar rupturas cromatídicas (figs 1.7 g respectivamente).

Tipo Subcromatídicas

Se presentan al exponerse las células en el momento inicial de la profase. Estas se presentan cuando sucede in intercambios entre el mismo cromosoma o entre cromosomas sobre subunidades cromatídicas (figs. 1.7 h) (19, 59).

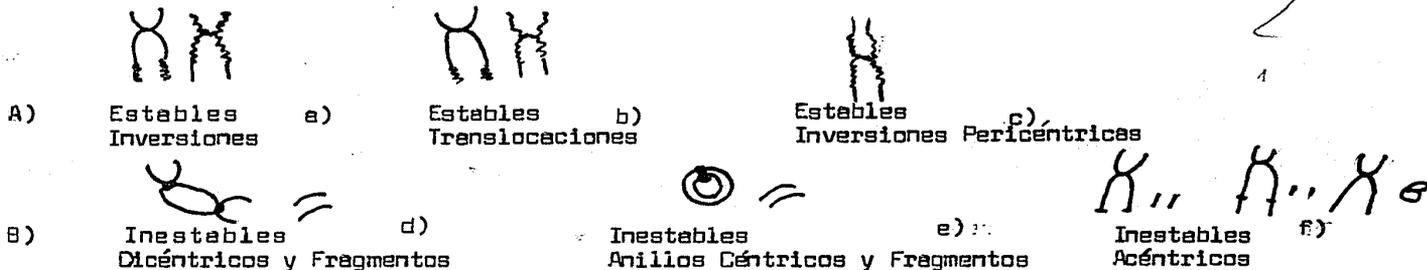
CURVAS DE CALIBRACION

A partir de experimentos con animales, cultivos de tejidos y estudios en pacientes irradiados, se ha encontrado que la producción de aberraciones en los linfocitos después de una radiación de cuerpo entero, es similar al obtenido cuando se expone a la misma dosis muestras de sangre in vitro, encontrándose como medida del daño causado por la radiación, el "Coeficiente de Producción de Aberraciones", éste define el aumento en el número de aberraciones por célula en relación a la dosis.

Al observar las preparaciones metafásicas durante la primera división, in vitro utilizando linfocitos humanos irradiados con rayos X después de la inducción se observan aberraciones de tipo cromosómico como deleciones, anillos, dicéntricos y traslocaciones simétricas. El número de deleciones aumenta linealmente con la dosis, mientras

TABLA 167 TIPOS DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS*

Tipo Cromosómico



Tipo Cromatídico



Tipo Subcromatídico



*Tomado de: Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment. Technical Reports Series No. 260 pp. 16-27

que los dicéntricos aumenten bruscamente con el cuadrado de la dosis. Encontrándose un coeficiente de $0.011 \pm 0.012 \times 10^5$ deflexiones por célula por rads y el coeficiente de producción de anillos y dicéntricos de 0.45×10^5 anillos y dicéntricos por célula por rad^2 . Así mismo se obtuvo en los cultivos control después de 72 hrs de cultivo aberraciones de tipo cromosómico espontáneas con una frecuencia de 0.014 fracturas por célula, estos coeficientes pueden ser aplicados a células sanguíneas irradiadas con rayos X o gamma mientras estén en el organismo. Estos coeficientes fueron obtenidos por Bender, pero cada laboratorio de acuerdo a su método de cultivo y tipo de fuente de radiación, debe establecer sus propios coeficientes (29, 43). En la tabla I-8 se resumen algunos de los coeficientes obtenidos para diferentes tipos de radiación en diferentes laboratorios (7).

Bender y Gooch en 1962, encontraron el irradiar in vitro células, que la producción de fracturas totales corresponde matemáticamente a la fórmula:

$$Y = a + bD + 2cD^2$$

Donde:

- Y = Producción total de fracturas
- a = Frecuencia de fracturas en cultivos control (sin irradiar).
- D = Dosis de rayos X o gamma
- b = Coeficiente de aberraciones de una fractura
- c = Coeficiente de aberraciones de dos fracturas.

La producción de anillos más dicéntricos se obtiene por la fórmula:

$$Y = cD^2$$

Donde:

- Y = Producción de anillos más dicéntricos
c = Coeficiente de aberraciones de dos fracturas
D = Dosis de rayos X o gamma

Esto permite construir gráficas conocidas con el nombre de "Curvas de Calibración", que se usan para relacionar el rendimiento de aberraciones in vitro, con la dosis de radiación en una exposición in vivo, estas curvas forman la base de la técnica de dosimetría cromosómica. Estas curvas de calibración han sido elaboradas por diferentes laboratorios, conjuntamente con los coeficientes de aberraciones cromosómicas habiéndose inclusive demostrado que cada sustancia radiactiva tiene coeficientes diferentes (Tabla 1.8) (2, 12, 17).

En base a los datos mencionados, se creó un "Dosímetro Biológico" con el que se puede estimar la dosis absorbida por exposición in vivo a radiación que se define como:

TABLA I-8. COEFICIENTES ALFA Y BETA DE LA RELACION LINEAL CUADRATICA
 DOSIS-EFECTO PARA CROMOSOMAS DICENTRICOS (DICENTRICOS MAS
 ANILLOS) EN LINFOCITOS HUMANOS EXPUESTOS A DIFERENTES TIPOS
 DE RADIACION; DATOS OBTENIDOS POR TINCION CONVENCIONAL***

TIPO DE RADIACION	ALFA $\times 10^{11}$ (Gy ⁻¹)	BETA $\times 10^{12}$ (Gy ⁻²)
15 MeV*electrones	0.55 ± 0.11	5.66 ± 0.55
13 MeV electrones	0.41 ± 0.11	3.02 ± 0.25
3 MeV electrones	0.25 ± 0.03	3.47 ± 0.16
60 Co rayos gamma	0.16 ± 0.03	5.00 ± 0.20
60 Co rayos gamma	0.27 ± 0.07	4.75 ± 0.34
60 Co rayos gamma	0.91 ± 0.19	6.82 ± 0.25
250 KeV**rayos X	0.48 ± 0.05	6.19 ± 0.31
220 keV rayos X	0.79 ± 0.04	5.36 ± 0.22
200 keV rayos X	7.51 ± 0.28	7.11 ± 0.84
150 keV rayos X	1.27 ± 0.53	5.42 ± 0.30
30 keV rayos X	1.54 ± 0.19	7.84 ± 0.25
10 keV rayos X	1.35 ± 0.69	1.59 ± 3.31
C _K rayos x	2.72 ± 0.29	3.62 ± 0.65
Al _K rayos x	2.35 ± 0.07	10.37 ± 0.12
15 MeV neutrones	1.41 ± 0.40	3.77 ± 2.78
14.7 MeV neutrones	2.62 ± 0.00	8.84 ± 3.71
14.1 MeV neutrones	25.0 ± 0.33	3.71 ± 2.02
7.6 MeV neutrones	4.78 ± 0.33	6.40 ± 2.02

*MeV = Megaelectron volts

**KeV = Kiloelectron volts

*** Tomado de: Bauchinger M. Radiation Induce Chromosome Damage in Man.
 Vol. 4 pag. 12

$$D = \frac{Y}{b}$$

Donde:

- D = Es la dosis en roentgens
- Y = Es la producción de anillos y dicéntricos en⁴ contrados en el análisis de metafases in vivo
- b = Es el coeficiente de anillos y dicéntricos es⁴ timados previamente (27)

En la actualidad la dosimetría se ha establecido como una técnica de protección radiobiológica, para aquellos individuos con exposición laboral, donde juega un papel fundamental, que complementa a los métodos de dosimetría física, ya que el análisis de aberraciones cromosómicas normalmente es un método biológico muy sensible para medir exposición a radiación, siendo capaz de detectar el equivalente a dosis de cuerpo entero de 0.1 Sv (10 rads) además de servir para estimación dosimétrica en accidentes de radiación severas o de menor escala en los que se involucra una dosis de 0.5 Sv (50 rads) y que estan asociados a exposición ocupacional en la radiografía médica, industrial o de investigación.

A través del establecimiento de la curvas dosis respuesta

de cultivos de linfocitos expuestos in vitro se pueden extrapolarse los datos in vivo para determinar la dosis recibida (fig. 1.2) que posteriormente a través de el análisis citogenético se determina la dosis real recibida (18).

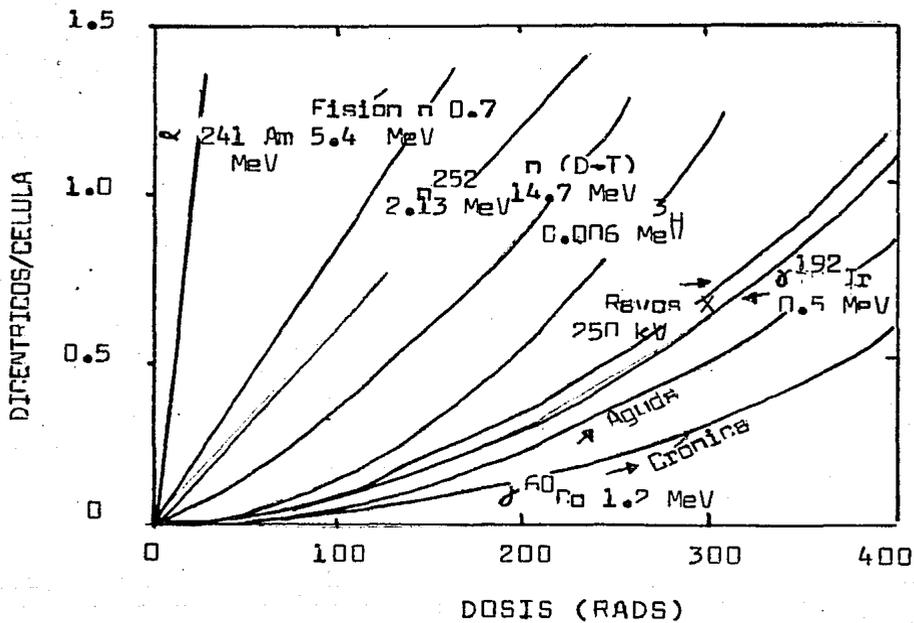


FIGURA I.2 CURVA DOSIS RESPUESTA PARA LINFOCITOS HUMANOS IRRADIADOS IN VITRO.

*Tomada de: R. DuFrain et al, (1980).

LA DETERMINACION DE MUTACIONES GENICAS EN EL LOCUS HGPRT

Se considera como prueba directa de mutagenicidad, aquella que permite cuantificar un evento mutagenico ocurrido en un organismo in vivo. La cuantificaci3n se hace por un ensayo in vitro cuyas condiciones controladas permiten reconocer las c3lulas afectas.

Las pruebas citogen3ticas son las que han tenido mayor uso en la detecci3n de da3o gen3tico en c3lulas som3ticas in vivo como fibroblastos y linfocitos de sangre perif3rica en las que se evalua presencia de micronucleos, intercambio de cromatidas hermanas y aberraciones cromos3micas; en estas mismas c3lulas ha sido utilizada para la detecci3n de exposici3n a radiaci3n. la evaluaci3n de anillos y dicentricos. Cabe se3alar que la determinaci3n de aberraciones cromos3micas implica la evaluaci3n de da3o grueso en el material gen3tico, en las que pueden estar involucrados varios loci. por lo que es importante el poder evaluar mutaciones puntuales ocurridas in vivo. En 1979 Strauss y Albertini (38) propusieron la utilizaci3n de la prueba que detecta mutaciones en el locus HGPRT en linfocitos T como sistema para la detecci3n de mutaciones puntuales. Esta proposici3n se basaba en las caracteristicas de este locus y de la enzima que se sintetiza a partir de 3l: que tiene a su cargo la recuperaci3n de hipoxantina y guanina

libre en el citoplasma para transformarlos en Ácido inosínico (IMP) y Ácido guanilico (GMP) la prueba propuesta permite seleccionar aquellos linfocitos deficientes en la enzima HGPRT presentes en una muestra de sangre periférica. Diversos estudios han mostrado que factores mutagenicos como son medicamentos citostáticos (40, 45) y la luz ultravioleta en combinación con osralen (36) son capaces de inducir mutaciones en el locus HGPRT in vivo; así también estudios in vitro, así como in vivo en pacientes o individuos involucrados laboralmente con radiación (25, 26) han mostrado un incremento en la frecuencia de mutantes en el locus HGPRT. por lo que consideramos de interés evaluar la utilidad de la prueba para determinar exposición en individuos involucrados en accidentes radiactivos.

Deficiencia congénita en el locus HGPRT

La mutación en el locus HGPRT en una célula germinal es la causa del síndrome de Lesch-Nyhan (28

) en el que se presentan alteraciones de dos tipos: neurológicas (retraso mental y en el desarrollo, autotomutilación compulsiva) y en la excreción ^{incremento} (síntesis ^{en /4} de purinas muy aumentada y excesiva excreción de ácido úrico). Se trata de un padecimiento ligado al cromosoma X, por lo tanto las mujeres no presentan el síndrome, pero son portadoras.

Albertini y de Mars (2) con base en las características de las células LN , encontraron que podrían detectar los linfocitos mutantes de las mujeres heterocigóticas por medio de una selección de las células resistentes al análogo 8-azaguanina, e identificarlas adicionando a los cultivos timidina tritiada (^3H -tdr) que es incorporado al ADN durante la fase de síntesis: las células resistentes la incorporan al duplicar su ADN mientras que las normales mueren antes de incorporarla.

En algunos individuos normales utilizados como controles se encontró incorporación de ^3H -tdr en presencia de 8-AG, es decir, se detectó que había algunas células alteradas en individuos no afectados por el

síndrome de Lesch-Nyhan, por ello Strauss y Albertini (32) propusieron que el método utilizado para identificar a los portadores de Lesch-Nyhan podría ser aplicado para identificar en forma individual las células alteradas, producto de mutaciones somáticas ocurridas in vivo.

ASPECTOS BASICOS SOBRE LA ENUMERACION DE LINFOCITOS T
MUTANTES EN EL LOGUS HGPRT

Síntesis de Purinas.

Vía de Novo y Vía de Recuperación o de Ahorro

Existe una vía de biosíntesis, llamada biosíntesis de novo que comienza con la formación de 5-fosforribo - sil-1-pirofosfato (PRPP) a partir de la ribosa-5-fosfa - to y ATP. Esta vía, esquematizada en la figura (L3) lle - va a la formación de inosinmonofosfato (IMP), a par - tir de la cual se pueden formar: adenosinmonofosfato - (AMP) por una vía para la cual se requiere GTP, o bien, xantosinmonofosfato (XMP) del que se forma guanosinmonog - fosfato (GMP) por otra vía en la cual se requiere ATP.

La recuperación de GMP y AMP, precursores de los ácidos nucleicos, a partir de las bases púricas libres (adeni - na, hipoxantina y guanina) se efectúa mediante la fosfo - rribosilación de las mismas. La enzima hipoxantina-gua - nina fosforribosiltransferasa (HGPRT) participa en la - recuperación de IMP y GMP a partir de la hipoxantina y guanina fig (L3)

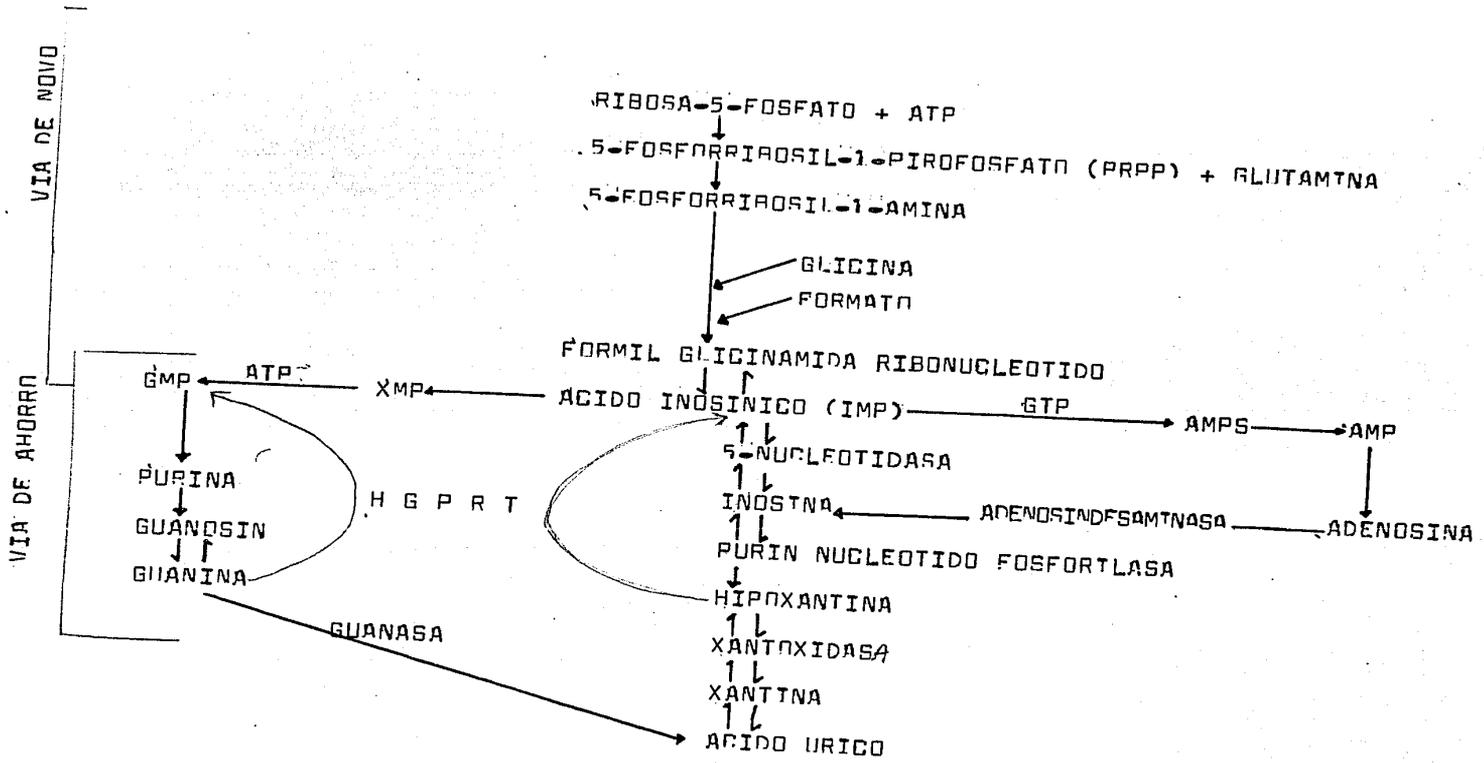


FIG. 1.3 SINTEIS DE PURINAS POR VIA DE NOVO Y VIA DE AHORRO

Resistencia a Análogos de Purinas

En 1975, Nelson y cols. (29) estudiaron los posibles mecanismos por los cuales la 6-tioguanina (6-TG) y otros análogos pudieran producir la toxicidad celular y encontraron que cuando se inhibía la síntesis de ADN la toxicidad por 6-TG disminuía notablemente, por lo que postularon que la incorporación de este análogo al ADN es el mecanismo responsable.

Para que se incorpore al ADN la tioguanina, es necesario que se forme primero el nucleótido correspondiente, que como se aprecia en la figura (I.4) se sintetiza por mediación de la enzima HGPRT. De aquí que una célula que carece de la actividad de esta enzima no forma los nucleótidos del análogo; dado que su vía de novo no se ve afectada y la incorporación de los nucleótidos normales a los ácidos nucleicos tampoco, una célula mutante para la enzima HGPRT es capaz de sobrevivir en un medio en presencia de 6-TG.

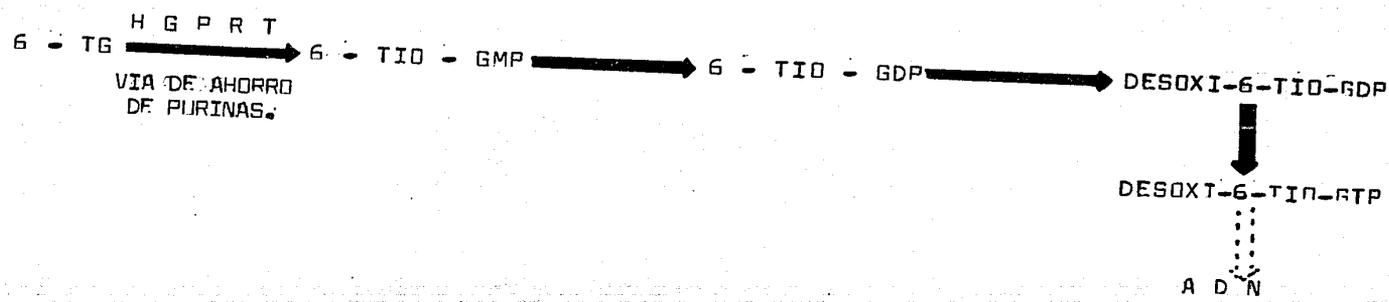


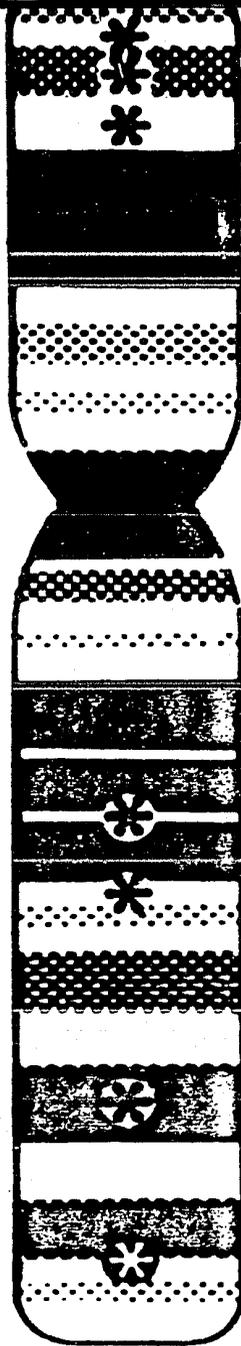
FIG. 1.4 MECANISMO DE TOXICIDAD DE LA 6-TIOGUANINA

El Locus HGPRT

Este locus se encuentra en el brazo largo del cromosoma X (48); Show y Brown (47) demostraron que se localiza entre los loci de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y de la fosfoglicerato cinasa (PGK), en algún punto entre las bandas q22 qter.

La exposición a análogos tóxicos de guanina con objeto de seleccionar mutantes mostró una frecuencia de células resistentes a la 8-azaguanina (8-AG^r) mayor que la frecuencia de células resistentes a bromodesoxuridina (análogo de timidina) y que resulta de una deficiencia en la enzima timidina cinasa cuyo locus se encuentra en el autosoma 16; estudios citogenéticos recientes indican que la frecuencia mayor de mutantes resistentes a análogos de purinas se debe a que el locus HGPRT, que es el responsable de la resistencia, se encuentra en el cromosoma X, en una región donde se ha detectado una alta frecuencia de rompimientos que podrían considerarse "sitios frágiles" ("hot spots") (48) (fig. I.5). Yunis y Sutherland han encontrado en esta región cromosómica tres sitios frágiles: dos de ellos constitutivos (49) y el otro, heredable.

p22.31
p22.2
p22.1



q21.32

q22.1

q25

q28.1

X

FIG. I.5 SITIOS FRAGILES EN EL CROMOSOMA X DE HUMANOS.
(TOMADA DE YUNIS, 1986)

MATERIAL Y METODO

Se obtuvieron dos tipos de muestras:

1) Sangre de 3 personas (I, II y III), dos hombres y una mujer de 45, 16 y 42 años respectivamente, que se sospechaba se ^{habían expuesto} expusieron a radiación gamma de ^{60}Co en 1983 - en un accidente ocurrido en Cd. Juárez, México. ()
El hombre mayor trabajaba en la fundidora que se contaminó con el material radiactivo, el joven de 16 años y la señora vivían en una zona residencial de Juárez, donde una camioneta contaminada con ^{60}Co fue estacionada - por 5 o 6 semanas. El joven tenía 14 años en el momento del accidente y jugaba frecuentemente en la camioneta descompuesta; la señora pasaba ocasionalmente cerca de ella. Las muestras se tomaron en Diciembre de 1985, aproximadamente dos años después del accidente (Tabla M.1).

2) Se tomaron muestras de dos mujeres mexicanas (IV y V) de 15 y 60 años quienes visitaban Kiev en Abril 26 de 1986, un día después del accidente en la Planta Nuclear de Chernobyl en la Unión Soviética (Kiev se encuentra a 80 millas del área de desastre); las muestras se tomaron el 19 de Mayo de 1986, 24 días después de la explosión. Un año después se volvieron a muestrear estos dos individuos (Tabla M.1).

La determinación de mutaciones génicas en el locus HGPRT consiste en:

TABLA M.1 DATOS DE LOS INDIVIDUOS EXPUESTOS ACCIDENTALMENTE A RADIACION IONIZANTE

DONADOR	FECHA DE MUESTRA	SEXO	EDAD	ACCIDENTE
I	17-12-85	M	45	CD. JUAREZ
II	17-12-85	M	16	CD. JUAREZ
III	17-12-85	F	42	CD. JUAREZ
IV	19-05-86	F	60	CHERNOBYL
V	19-05-86	F	15	CHERNOBYL
IV*	12-04-87	F	61	CHERNOBYL
V*	12-04-87	F	16	CHERNOBYL

- Separación de Linfocitos: De una muestra de sangre de 40-50 ml se separan las células blancas utilizando un gradiente de Fycoll-Hypaque que se centrifuga durante 30 min a 1600 rpm (este proceso deberá llevarse a cabo en forma estéril).
- Conteo de células. Se separa el anillo de células blancas en medio de cultivo y se cuentan con un hemocitómetro y colorante vital.
- Congelación. Una vez determinado el número de células obtenidas en la separación se resuspenden en medio de cultivo RPMI 1640, con plasma autólogo al 10% y DMSO al 7.5% a una concentración de 10×10^6 células/ml y se congelan a -70°C . Así se conservarán hasta el momento del cultivo.
- Descongelación y Siembra de Cultivos Control y Selectivos en Presencia de 6-TG. Las células congeladas se descongelan a 37°C , se lavan en medio de cultivo y se cuentan con colorante vital para ver cuantas se recuperaron y su viabilidad. Si la proporción de células vivas alcanza el 80% se procede a montar el cultivo. La viabilidad se obtiene dividiendo el número de células vivas que se encontró, entre el total de células contadas.

- Para establecer los cultivos, las células recuperadas se resuspenden en medio RPMI 1640 con suero autólogo al 20% ajustando a una concentración de 1×10^6 células para cada 0.9 ml. Estos cultivos se consideran testigos del experimento para cada individuo y en ellos se determina el índice de marcaje (LI_c).
- De la suspensión de células preparadas en el paso anterior se toman 4.5 ml de tal forma que se tiene 5×10^6 células. Se les agrega 0.5 ml de medio básico con el fin de igualar el pH con el de los cultivos en presencia de 6-TG. Finalmente se agregan 0.2 ml de PHA. No se emplean antibióticos.
- Para los cultivos en presencia de 6-TG se toman igualmente 4.5 ml de suspensión de células y se agregan 0.5 ml de 6-TG 2×10^{-4} M. Se agrega 0.2 ml de PHA sin antibiótico.
- Para cada individuo se prepara un cultivo testigo y tres cultivos en presencia de 6-TG como mínimo.
- Incubación y marcaje con 3H -tdr. Se incuban los cultivos a $37^\circ C$ durante 24 horas; se agregan 20 μ l de timidina tritiada (6.7 Ci/mmol de actividad específica) y se dejan incubar 16 horas más.
- Se cosechan en ácido cítrico helado y se fijan con

metanol-ácido acético 7.0:1.5.

- Se hacen las laminillas para autorradiografías, cu dando no perder material de los cultivos selectivos y - que los núcleos queden bien dispersos y se procede a - cubrir esas preparaciones con emulsión fotográfica pa - ra obtener autorradiografías de los núcleos que hayan incorporado ^3H - tdr en su material genético. Se re - velan y se tiñen con colorante Giemsa al 2%.

- Se evalúan las autorradiografías en microscopio co mún para la determinación del índice de marcaje (LI_c) - en los controles y para la determinación del número de mutantes (M) y el índice de marcaje en los cultivos - selectivos (LI_m).

- El índice de marcaje de los cultivos de control se obtiene:

$$\text{LI}_c = \text{Número de Núcleos Marcados} / 5000$$

- El índice de marcaje de los cultivos en medio se - lectivo se obtiene contando la cantidad total de núcleos marcado en las autorradiografías (M) sobre el total de núcleos recuperados en esos cultivos (T):

$$\text{LI}_m = M / T$$

⇒ Finalmente se obtiene la frecuencia de variación o de mutación (Vf) que está dada por la razón entre los dos índices obtenidos previamente:

$$Vf = LI_m / LI_c$$

CRITERIOS PARA LA EVALUACION DE AUTORRADIOGRAFIAS.

Las autorradiografías reveladas y teñidas con Glem-
sa se observan al microscopio y se observan núcleos -
teñidos con el colorante y núcleos que presenta la mar-
ca autorradiográfica que ^{originada por los} consiste en gránulos de pre-
cipitación de nitrato de plata de la emulsión (foto 1).

Si la cantidad de isótopo incorporado al núcleo es
alta, la precipitación de emulsión causada por su desin-
tegración hará aparecer al núcleo completamente negro,
con un contorno circular u ovalado, pero siempre redon-
deado, y gránulos individuales alrededor.

Si la cantidad de isótopo incorporado en un núcleo
no fue muy elevada, la cantidad de gránulos de emul-
sión que se ~~observa~~ sobre el núcleo no lo cubre por com-
pleto y es posible distinguir todavía el núcleo teñido
por debajo de ella.

Cuando la cantidad de gránulos sobre el núcleo no
rebase el número de 20, ~~se ha establecido,~~ se consi-
dera no marcado; se asume que la cantidad de ³H-tdr in-
corporada no es indicativa de que la célula efectuó la
fase de síntesis del ADN y así se elimina la posibi-

lidad de contar como positivo un núcleo que sólo tenga precipitación inespecífica por las condiciones de la emulsión.

En la evaluación de estos núcleos con escasa marca es importante considerar lo que se llama precipitación - inespecífica de la emulsión (Background).

Cuando es muy frecuente o intensa esa precipitación puede causar confusión en la evaluación, principalmente en las zonas de la autorradiografía donde hay muchos núcleos muy próximos; pero es sencillo diferenciar si se trata de precipitación inespecífica o no, analizando las zonas de la autorradiografía donde no hay células con el fin de determinar la frecuencia, proximidad y distribución de las precipitaciones.

Esta forma de marcado es exactamente igual ya sea que se trate de núcleos que incorporaron ^3H -tdr en cultivos de control, o bien, que la haya incorporado en presencia de 6-TG.

Resumiendo, los criterios para evaluar como positivo un núcleo se pueden enumerar como sigue:

- 1) que se distingan precipitaciones de la emulsión directamente sobre el núcleo, en número mayor -

de 20

- 2) que se aprecie por debajo de la marca al núcleo teñido por el Giemsa
- 3) si la marca es muy intensa y no permite ver el núcleo teñido, entonces se determina por la forma redondeada u ovalada del núcleo, alrededor - del cual se puede distinguir una corona de gránulos. (2a.8)

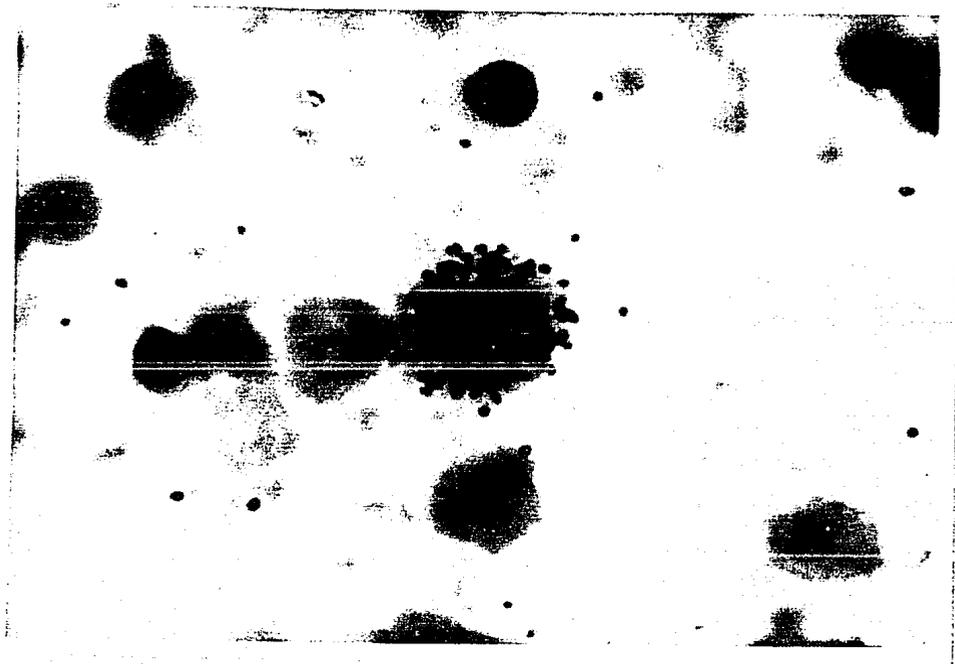


FIG. M.1.

LINFOCITOS ~~X~~ MUTANTE

ANALISIS ESTADISTICO

Se calculó el intervalo de confianza (IC) de una frecuencia de células variantes, así como el IC de la relación entre dos frecuencias, Dichas pruebas fueron desarrolladas por Sylwester y Albertini en 1985 (12)

La fórmula utilizada para el Intervalo de Confianza para una Frecuencia de Células Variantes (Vf) es:

$$(V_i; V_s) = (Vf \exp(-1.96/\sqrt{M}); Vf \exp(1.96/\sqrt{M})) \quad (1)$$

donde:

V_i = Valor inferior del intervalo

V_s = Valor superior del intervalo

Vf = Frecuencia de variación analizada

1.96= Constante obtenida de una tabla para valores Z para intervalos de confianza del 95%.

M = Número de Mutantes encontrados en la muestra.

La fórmula empleada para medir el Intervalo de Confianza para la relación entre Dos Frecuencias de Variantes

(Vf_2/Vf_1) es:

$$(Vf_2/Vf_1)_i ; (Vf_2/Vf_1)_s = ((Vf_2/Vf_1)/\exp(1.96s); (Vf_2/Vf_1) \exp(1.96s)) \quad (2)$$

donde:

- $(VF_2/VF_1)_1$ = Valor inferior del intervalo
 $(VF_2/VF_1)_s$ = Valor superior del intervalo
 s = Desviación estándar de una distribución normal de los logaritmos naturales de las razones entre los números de células mutantes de muestras independientes y se obtiene de:
 $s = (1/M_2 + 1/M_1)^{1/2}$
1.96 = Constante Estadística para Intervalos de Confianza del 95%

Se aplicó la prueba de T de Student, útil para comparar promedios, para comparar los promedios de las Vf de los individuos control con los valores Vf encontrados en los individuos expuestos. La fórmula empleada es: (33)

$$DMS = T_{\alpha} \text{ GL} \times \sqrt{2 \text{ S}^2 / n}$$

donde:

- DMS = Diferencia Mínima Significativa
 T_{α} = Probabilidad obtenida en Tablas
GL = Grados de Libertad
 S^2 = Desviación Estándar al Cuadrado
n = Número de Datos

RESULTADOS

En la sangre periférica de individuos que no han estado expuestos a radiaciones artificiales se encuentran una cierta frecuencia de linfocitos T resistentes a tioguanina. En la tabla R-1 se muestran los parámetros que fueron evaluados con el fin de definir las frecuencias de células resistentes a tioguanina (Vf) en esos individuos. En las figuras R-1 y R-2 se muestran la dispersión de los índices de marcaje en los cultivos no selectivos y la dispersión de los valores Vf en la población de individuos no expuestos, respectivamente.

El índice de marcaje (LI_m) promedio en los testigos fue de 0.31. La frecuencia de variantes (Vf) en los individuos estudiados se distribuyó en un intervalo de 0.0 a 22.2×10^{-6} y una mediana con valor de 4.4×10^{-6} .

En la tabla R-1 y en la figura R-3 se muestran los intervalos de confianza del 95% (CI) para los valores Vf normales encontrados.

La frecuencia de variantes Vf se determinó también en muestras de sangre de los 5 individuos involucrados en los accidentes radiactivos (Materiales y Métodos). En la tabla R-2 se presentan los parámetros que se evaluaron para calcular la Vf de linfocitos T resistentes a tioguanina en este grupo.

Los LI_m obtenidos en estas muestras de sangre, muestran una tendencia a ser menores que la mayoría del grupo control, inclusive en los dos individuos en los que se hizo una segunda evaluación un año después de la exposición (fig. R-3). Llama la atención que el índice de marcaje de los cultivos de prueba con tioguanina (LI_m) en uno de los individuos (individuo V) mostró un valor muy elevado (23.9×10^{-6}). Cabe señalar que en estos cultivos hubo una baja recuperación de núcleos (T) (0.67×10^6).

Los VF de los individuos I, II y V fueron notablemente mayores que los VF de los individuos control (fig. R-4).

El análisis estadístico evaluando los intervalos de confianza del 95% de los valores VF de los individuos control y expuestos, indicó que los valores VF de los individuos expuestos (III y IV) pertenecen a la misma distribución que se definió para los individuos normales, mientras que los tres individuos (I, II y V) están fuera de esta distribución. Los VF obtenidos en el segundo muestreo de los individuos involucrados en el accidente de Chernobyl disminuyeron notablemente llegando inclusive a corresponder a la distribución de los individuos no expuestos a radiación. (Tablas R-1 y R-2 fig. R-2).

La comparación de los valores VF del grupo control y del grupo expuesto por la prueba de T de Student, revela que los valores como grupos son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Mientras que los valores del segundo muestreo indican que no hay diferencias significativas entre estos y los VF de los controles.

Los valores VF de cada individuo expuesto se pueden comparar con los valores individuales VF de los controles, utilizando el método de razones entre VF descrito por Sylwester y Albertini (11). Al comparar cada uno de los individuos expuestos con el valor medio y superior de los controles (tabla R-3), se encuentra que: los individuos III y IV son significativamente diferentes del valor mediano y los controles, no así del valor superior de los mismos, mientras que los VFs de los individuos I, II y V son significativamente diferentes del valor mediano y del valor superior de los controles. Al ser comparados de la misma manera los datos del segundo muestreo (IV' y V'), no se encontraron diferencias significativas con el valor mediano, pero sí con el valor superior de los VF de la muestra control.

Cabe señalar que los VF del segundo muestreo de los individuos que visitaron Kiev, están dentro de la distribución normal.

III?

TABLA R-1

FRECUENCIA DE MUTACIONES EN EL LOCUS HGPRT
 Individuos No Expuestos a Fuentes de Radiación Artificial

DONADOR	FECHA DE TOMA DE MUESTRA	LI _c	T (x10 ⁶)	N (x10 ⁶)	M	LI _m (x10 ⁻⁶)	VP (x10 ⁻⁶)	I.C. 95%(x10 ⁻⁶)
J.R.E.	17-09-84	0.2466	7.5	1.85	0	0.0	0.0	-
L.D.	27-08-84	0.4116	5.0	2.06	0	0.0	0.0	-
R.M.M.	07-08-84	0.1544	2.5	0.386	0	0.0	0.0	-
R.M.M.	30-01-85	0.4206	7.8	3.28	3	0.3846	0.91	0.3 - 2.8
S.C.	07-08-84	0.4616	7.5	3.46	6	0.66	1.44	0.7 - 3.5
J.E.A.	22-01-85	0.3846	7.3	2.83	6	0.8219	2.12	0.5 - 4.7
M.A.A.	27-11-84	0.2579	7.2	1.85	4	0.555	2.15	0.8 - 5.7
E.V.	03-10-84	0.3213	2.5	0.803	3	1.2	3.74	1.2 - 11.6
R.D.P.	04-12-84	0.3688	3.5	1.29	5	1.42	3.87	1.6 - 9.3
M.C.M.	06-02-85	0.3656	6.3	2.3	11	1.746	4.78	2.6 - 8.6
A.V.B.	18-04-85	0.1375	6.0	0.825	4	0.666	4.84	1.8 - 12.8
P.D.W.	15-01-85	0.3376	7.5	2.5	13	1.73	5.13	3.0 - 18.9
R.G.	29-03-85	0.3477	6.0	2.0862	17	2.8333	8.19	5.0 - 13.1
F.CH.	01-02-85	0.1010	12.06	1.2756	16	1.269	12.57	7.7 - 20.6
D.	26-03-85	0.3630	4.5	1.633	23	5.111	14.08	9.4 - 21.2
C.D.N.	05-07-84	0.2152	2.5	0.538	10	4.0	18.07	10.0 - 34.5
A.G.C.	06-03-85	0.3624	7.5	2.718	54	7.2	19.86	15.2 - 25.9
F.R.R.	01-02-85	0.2995	6.0	1.79	40	6.6666	22.26	19.1 - 30.3

$\bar{x} = 0.3087$

DE = 0.0995

$\bar{x} = 2.0 \times 10^{-6}$ $\bar{x} = 6.9 \times 10^{-6}$

DE = 2.25×10^{-6} DE = 7.11×10^{-6}

LI_c
 T
 N
 M
 LI_m
 V_p

Indice de Marcaje en Cultivos Control/5000 núcleos evaluados
 Total de núcleos recuperados de cultivos con tioguanina x 10⁻⁶
 (LI_c x T) (10⁶)
 Total de núcleos marcados en cultivos con tioguanina
 (M/T) (10⁻⁶)
 (M/T) (LI_c) (x10⁻⁶)

TABLA R#2

FRECUENCIA DE VARIACION DE LINFOCITOS⁴T RESISTENTES
A 6³TIOTIOGUANINA EN PERSONAS SUPUESTAMENTE EXPUESTAS
A RADIACION IONIZANTE.

DONADOR	ACCIDENTE	LI _c	T(x10 ⁶)	N(x10 ⁶)	M	LI _m ⁴ (x10 ⁴)	VF (x10 ⁴)	CI 95% (x10 ⁴)
I*	CD. JUAREZ	0970	210	20376	24	114285	11782	789 ± 1758
II*	CD. JUAREZ	0330	600	01980	25	42666	12626	853 ± 1868
III*	CD. JUAREZ	2426	510	12372	23	45098	1859	163 ± 280
IV**	CHERNOBYL	2123	124	02632	88	64516	3038	182 ± 605
V**	CHERNOBYL	2763	067	01851	16	239805	8642	207 ± 1419
IV****	CHERNOBYL	1415	1280	18112	10	07813	552	297 ± 103
V****	CHERNOBYL	1189	505	06004	4	07920	666	254 ± 176

* Muestras tomadas dos años después de la posible exposición

** Muestras tomadas un mes después de la posible exposición

*** Muestras tomadas un año después de la posible exposición

LI_c Índice de marcaje en cultivos controles/5000 núcleos evaluados
 T Total de núcleos recuperados en cultivos con 6³tiotioguanina x 10⁶
 N (LI_c x T) (x10⁶)
 M Total de núcleos marcados en cultivos con 6³tiotioguanina
 LI_m (M/T) (10⁴)
 VF (M/T)/LI_c (x10⁴) = 2.5m/1.5c (x10⁴)

IC 95% ?

TABLA R-3

INTERVALOS DE CONFIANZA DEL 95 % PARA LAS RAZONES ENTRE VF_s DE INDIVIDUOS EXPUESTOS EN RELACION CON LA MEDIANA Y LOS VALORES MAYORES DE LOS CONTROLES

Intervalos de Confianza del 95% para las Razones entre VF de Individuos Expostos y Superiores a un Valor Tomando

V _{F2} / V _{F1}	VALOR INFERIOR	VALOR SUPERIOR	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA
I/MCM**	12.07	50.30 +	
I/FRR**	3.19	8.77 +	+ /
II/MCM	12.97	53.58 +	+ /
II/FRR	3.43	9.33 +	+ /
III/MCM	1.89	7.98 +	+ /
III/FRR	0.50	1.40 -	+ /
IV/MCM	2.55	15.80 +	+ /
IV/FRR	0.64	2.90 -	+ /
V/MCM	8.39	38.98 +	+ /
V/FRR	2.17	6.93 +	+ /
IV'/MCM	0.49	2.71 -	+ /
IV'/FRR	0.13	0.50 +	+ /
V'/MCM	0.44	4.37 -	+ /
V'/FRR	0.11	0.83 +	+ /

* Calculados por la fórmula desarrollada por Sylwester y Albertini (1985) para los Intervalos de Confianza de las Razones entre Frecuencias de Variación (VFs): $(Vf_2/Vf_1/\exp(1.96s))$ $(Vf_2/Vf_1)\exp(1.96s)$

** MCM es la mediana de los valores Vf en los controles y FRR es el valor superior en el mismo grupo

elph...

Indice de marcajes (L.I.c)

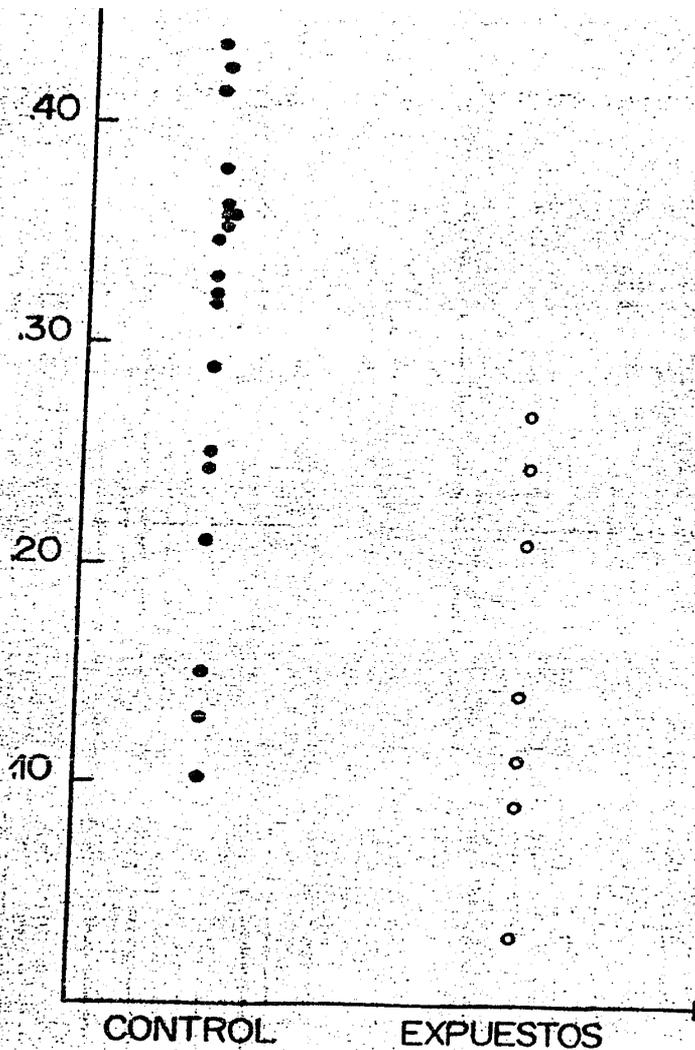


FIG. R-1 COMPARACION DE LOS INDICES DE MARCAJE (L.I.c) ENTRE LOS INDIVIDUOS CONTROL Y EXPUESTOS.

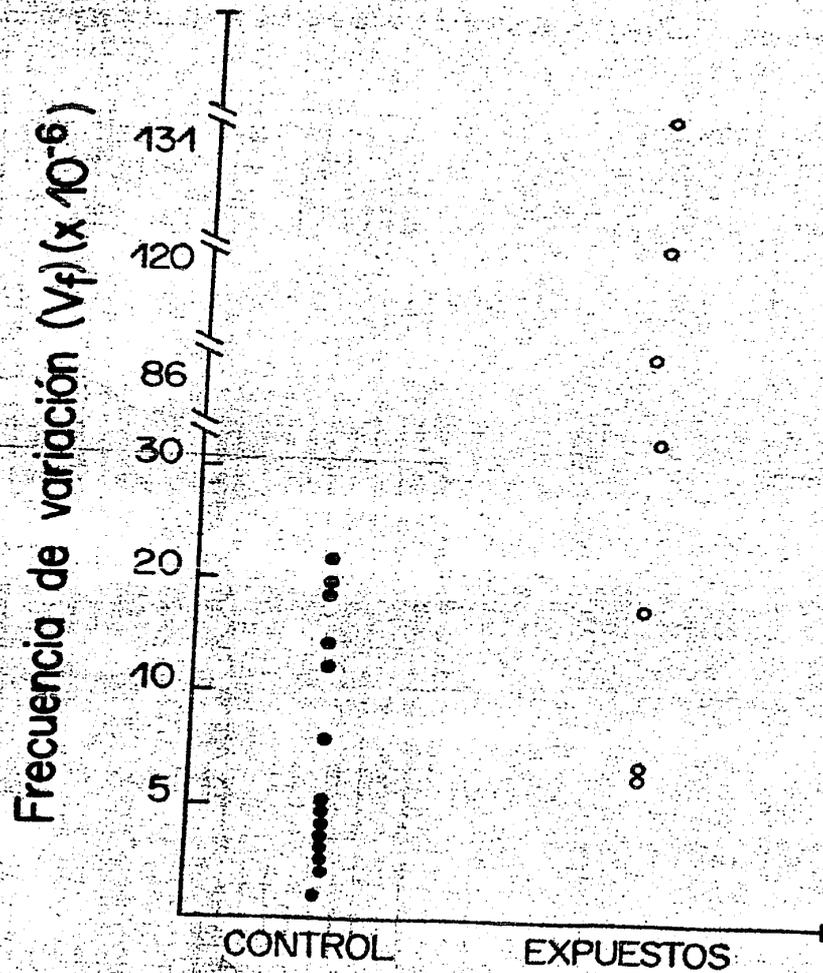
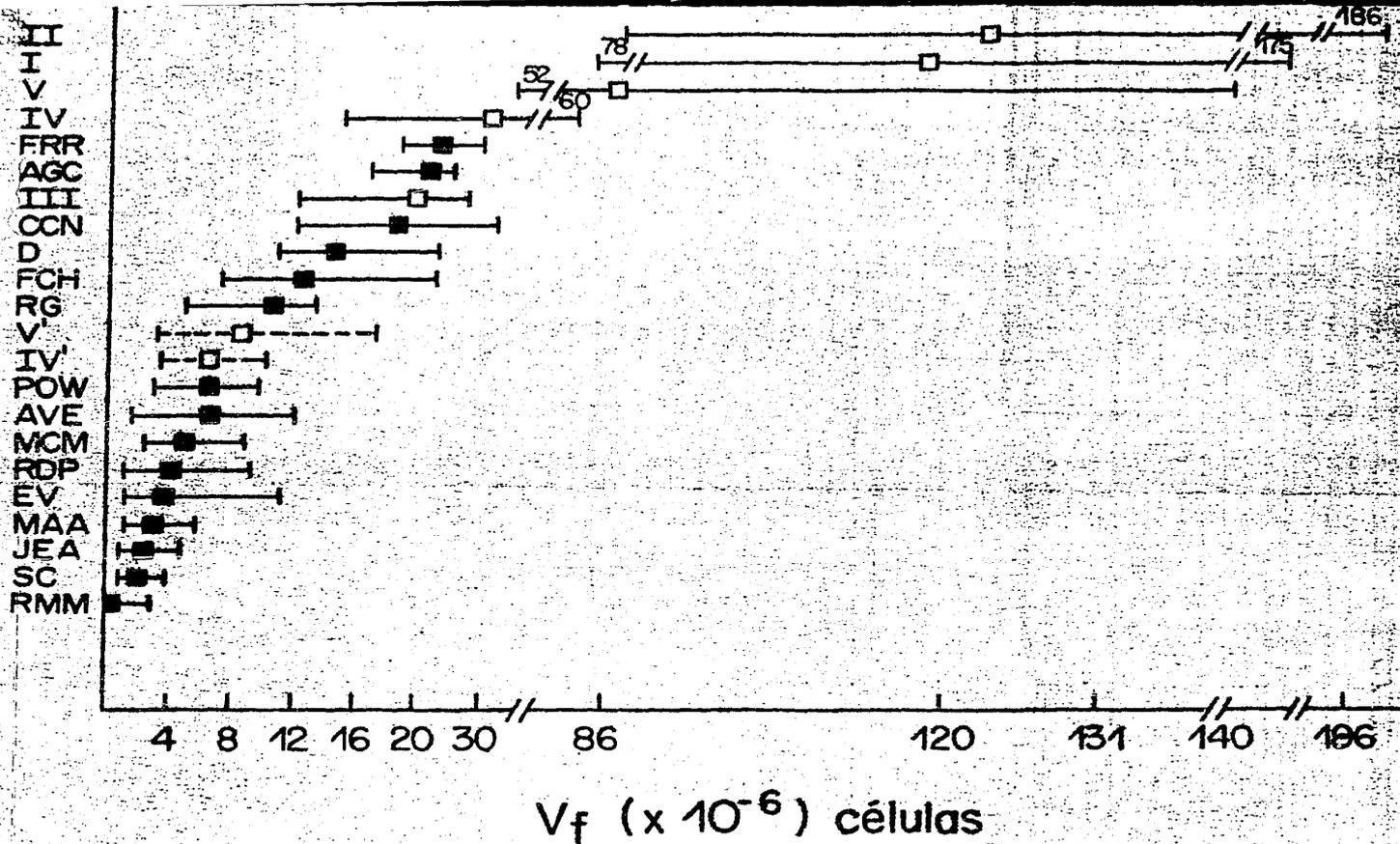


FIG. R-2 COMPARACION DE LAS V_f ENTRE LOS INDIVIDUOS CONTROL Y EXPUESTOS

Individuos



V_f (x 10⁻⁶) células

FIG. R-3 V_f e Intervalos de Confianza del 95% en Individuos Control y Expuestos a Radiación Ionizante

- Valores V_f observados en individuos control
- Valores V_f observados en individuos expuestos
- Intervalo de confianza del 95%
- - - Intervalo de confianza del 95% de individuos muestreados un año después
- Letras: individuos control
- Números romanos: individuos expuestos

D I S C U S I O N

La determinación de T-lys TG^F producidas por mutación somática in vivo se puede hacer por dos métodos: por autorradiografía y por clonación. Mediante el método de clonación se ha podido demostrar que las células TG^F son verdaderas mutantes y se considera como el método mas confiable para determinar su frecuencia. La autorradiografía sin embargo, es mas simple y accesible, en particular para aquellos laboratorios de países en desarrollo. Recientemente se pudo demostrar que los dos métodos dan resultados estadísticamente iguales bajo condiciones en las que se eliminan posibles fuentes de error como pueden ser las fenocopias en el método autorradiográfico y una baja eficiencia de clonación en este método (11). Así, el ensayo autorradiográfico es adecuado como un método para la determinación de daño genético en poblaciones humanas.

En este estudio, el grupo de individuos involucrados en los accidentes radiactivos mostraron en general, valores de LI_c menores que los observados en los controles, lo que podría indicar una menor capacidad de respuesta celular de los individuos expuestos a radiación, cabe señalar que para este hecho, se requiere ampliar la muestra para poder llegar a una conclusión.

Se ha señalado que la frecuencia de T-lys TG^F no esta relacionado con el LI_c en el método autorradiográfico y la estimulación de linfocitos per se no es un factor que influya directamente en los valores V_f elevados (1). Por lo tanto, estos valores de marcaje tan reducidos, encontrados en el grupo de individuos expuestos, no influye en los elevados valores de V_f .

De los cinco individuos involucrados en los accidentes uno de ellos (individuo III tabla 2) mostró un valor de V_f inferior al valor superior en los controles. Los otros cuatro individuos, no obstante mostraron valores superiores. El valor menor (individuo III tabla 2) se observó en la mujer mayor de Cd. Juárez con la menor y menos problemática expo-

sición a la radiación ionizante como se señaló en el material y métodos. Es muy posible que este individuo haya tenido esa casa o ninguna exposición.

El estudio de los individuos (IV y V) que se encontraban en Kiev durante el accidente de Chernobyl, se realizó un mes después, encontrándose un incremento en la Vf considerable (individuo V) comparado con los individuos control pero las muestras tomadas aproximadamente un año después del accidente (IV' y V') muestran una notable disminución en la Vf que se encuentra dentro de los rangos de los individuos control lo que podría sugerir una dosis baja de exposición.

Llama la atención los valores tan elevados de Vf encontrados en los individuos I y II a pesar de que las muestras se evaluaron dos años después del accidente, mientras que el segundo muestreo de los individuos IV y V muestran valores normales después de un año. La información existente con respecto a la evolución de las mutantes no nos permite explicar estas diferencias y tan solo cabe plantear el que la elevada dosis a la que estuvieron expuestos los individuos involucrados en el accidente de Cd. Juárez tenga que ver con la persistencia de las células mutantes aún después de varios años.

El análisis citogenético de los T₄lys de los individuos expuestos se llevó a cabo con las mismas muestra de sangre que se usaron para el ensayo autorradiográfico. Los individuos IV y V no mostraron ningún daño, lo que comprueba que la dosis de radiación recibida por estos individuos fue baja, de las muestras tomadas un año después no se encontraron dicentricos ni anillos. El análisis citogenético de las tres personas expuestas en el accidente de Cd. Juárez, fue realizado por otro grupo de investigación (28A) quienes encontraron 2%, 2% y 1% de dicentricos (individuos I, II y III, respectivamente). Debido a que los estudios en estos individuos se efectuaron dos años después de la posible exposición, poco puede decirse en relación con la dosis inicial de radiación.

Otros autores han demostrado (Tabla D-41) que la exposición a radiación provocó la elevación de la frecuencia de T₄lys mutantes TG^F, los datos sin embargo no son comprobables con los

nuestros por haber sido determinados ^{por} con el método de clonación ~~en dos casos~~ por ser estudios realizados in vitro y en los casos in vivo, además por tratarse de pacientes que estaban recibiendo radiación por motivos terapéuticos o técnicos radiólogos (25, 26) Tabla D.1 . Este es el primer reporte en el que se muestra que los humanos expuestos a accidentes de radiación en gran escala muestran una elevación en las frecuencias de células T-lys TG^r y también se pone de manifiesto que este efecto genotóxico ocurrido in vivo puede detectarse por el método de autorradiografía.

Se debe hacer notar que se requiere de estudios posteriores para definir la sensibilidad de este método así como el tiempo durante el cual se debe hacerse el seguimiento de los individuos expuestos para detectar en forma óptima los efectos genotóxicos. También, por el método de clonación se podrá hacer la caracterización a nivel molecular de las mutaciones ocurridas en el locus HGPRT y se podrán cuantificar los eventos mutacionales ocurridos in vivo, que den origen a las mutantes TG^r (30). De cualquier forma, se demuestra claramente la utilidad del método autorradiográfico para detectar el daño genotóxico que se produce después de la exposición humana a la radiación ionizante por causa de un accidente de grandes proporciones.

Cabe además señalar que ante el uso masivo de la radiación tanto con fines médicos, de investigación como para la producción de energía, el monitoreo biológico de los individuos involucrados en cualquiera de los casos señalados se vuelve una necesidad ya que permite detectar la exposición de los individuos a la radiación previniendo posiblemente daños irreversibles en sus células.

En estos momentos en los que la relevancia y las desventajas del uso de materiales radiactivos está en discusión, es evidente que su uso proporciona al ser humano grandes ventajas y que es importante poder manejar con el mínimo riesgo la radiactividad y contar con los métodos para la detección de fallas en el sistema, tanto métodos físicos, como químicos y

mediante proteínas

desde luego como único método que puede medir daño real al ser humano la dosimetría biológica, que por el momento utiliza la producción de aberraciones cromosómicas.

Los datos obtenidos indican que el método propuesto en este trabajo puede ser mas sensible que la evaluación citogenética, sin embargo la muestra es pequeña y se requiere de aumentar el número de individuos expuestos a diferentes dosis de radiación para poder proponer el método de HGPRT que evalúa linfocitos T resistentes a 6-tioguanina, como un método de monitoreo que permita medir con exactitud la dosis de exposición.

TABLA D.1 APLICACION DE LA PRUEBA DE HGPRT COMO PRUEBA DE MUTAGENICIDAD
 POR EXPOSICION A RADIACION

TIPO DE RADIACION	COMPORTAMIENTO	FRECUENCIAS CONTROL	ENCONTRADAS EXPUESTOS	METODO	REFERENCIA
RAYOS X	INCREMENTO CON LA DOSIS (IN VITRO)	1.48×10^{-5}	6.05×10^{-5}	CLONACION	45
		2.9×10^{-6}	9.5×10^{-5}	CLONACION	36
LUX UV	INCREMENTO CON LA DOSIS (IN VITRO)	2.9×10^{-6}	5.6×10^{-5}	CLONACION	36
RADIACION GAMMA	INCREMENTO EN PACIENTES TRATADOS (IN VIVO)	8.6×10^{-6}	36.8×10^{-6}	CLONACION	25
TECNICOS RADIOTERAPEUTAS	INCREMENTO EN INDIVIDUOS (IN VIVO)	1.93×10^{-6}	4.04×10^{-6}	CLONACION	26
MEDICINA NUCLEAR	INCREMENTO EN INDIVIDUOS (IN VIVO)	1.22×10^{-6}	4.03×10^{-6}	CLONACION	26

B I B L I O G R A F I A

- 1 -Albertini R. Somatic Gene Mutations in vivo as indicated by the 6-thioouanine-resistant T-lymphocytes in human blood. Mut. Res. 150 pp 411-422 (1985).
- 2 -Albertini R. v De Mars R. Mosaicism of peripheral blood lymphocytes populations in females heterozygous for the Lesch-Nyhan mutation Biochemical Genetics. Vol. 11 No. 5 - (1974).
- 3 -Arnold W. J. v Kelly W.N. Human hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase. J. Biol. Chem. Vol. 246 No. 23 pp 7398-7404 (1971)
- ✓ 4 -Azorin N. J. El Sistema Internacional de Unidades (SI) v las Ciencias Nucleares. Cuadernos del ININ serie de Divulgación Técnico-Científica. pp 11-23 (1981)
- ✓ 5 -Awa A. A. Chromosome Damage in Atomic Bomb Survivors and their Offsprings-Hiroshima & Nagasaki. Radiation Induce Chromosome Damage in Man. Progress on Topics in Cytogenetics Vol. 4 pp 433-453 (1983).
- ✓ 6 -Barnathan J. & Strasser S. The Chernobyl Syndrome. Newsweek. Mayo 12 (1986).
- 7 -Bauchinger M. Microdosimetric Aspects of Induction of Chromosome Aberration. Radiation Induce Chromosome Damage in Man. Progress and Topics in Cytogenetics Vol. 4 pp 1-22 (1983).
- 8 -Bender, M.A. Status of human Chromosome Aberration as a biological dosimeter in nuclear Industry. Routine Use of Chromosome Analysis in Radiation Protection. Technical Document - Issued by the International Atomic Energy Agency Vienna (1979)

9 Begley Sh. y Katz S. The 20th Century Plague
Newsweek Mayo 12 pp 22-23 (1986).

10 Bioquímica de Harper. Traducción Actualizada
de 19ª Edición. Ed. El Manual Moderno, S. A.
de C. V. Cap. 26 (1984).

✓ 11 Casarett. A.P. Radiation Biology. American Ins-
titute of Biological Sciences. Prentice-Hall
Inc. Englewood Cliffs. New Jersey (1968).

✓ 12 Caskey R. Kruh G. The HGPRT Locus. Cell. Vol.
16 pp. 1-19 Enero (1979)

✓ 13 Curso de Radiobiología a cargo de la Profrs.
Susana González. Instituto Peruano de Energía
Nuclear. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
Centro Superior de Estudios Nucleares. (1985).

14 Dancis J. Cox R. Berman P. Jansen V y Balis M.
Cell Population density and phenotypic ex-
pression of tissue culture fibroblasts from he-
terozygotes of Lesch-Nyhan's disease. (Inosinate
Pyrophosphorylase deficiency) Biochem.Genet.
3:609-615 (1969).

15 De Mars R. Genetic studies of HGPRT deficien-
cy and the Lesch-Nyhan Syndrome with culture
human cells. Fed.Proc. Vol. 30 No. 3 pp 944-
955 Junio (1971)

16 De Robertis E.D.P. y De Robertis E.M.T. Bio-
logía Celular y Molecular. 10ª. Edición. Ed.
El Ateneo. Buenos Aires pp 343-374 (1982)

17 Dempsey J.L. Morley A. A. Evidence that thio-
guanine resistant lymphocytes detected by au-
torradiography are mutant cells. Mut. Res.
119:203-211 (1983).

18 DuFrain R. Littlefield G, Joiner E. y Frame E.
In vitro Human Cytogenetic Dose Response Sys-
tems. Medical Basis for Radiation Accident -
Preparedness. Elsevier North Holland Inc. pp
357-374 (1980).

96

✓ 19 Edwards M. Chernobyl One Year After. Natio -
nal Geographic. Vol. 171 núm. 5:632-652 (1987)

✓ 20 Fenyves E. y Herman O. The Physical Principles
of Nuclear Radiation Measurements. Academic -
Press N. Y. (1969)

✓ 21 Gale R. Witness to disaster. Life. Vol. 9 núm.
5:20-28 New York U.S.A. Mayo (1987).

✓ 23 Little J. Cellular Effects of Ionizing Radiation
Medical Progress. New England Journal of Medicine
278:308-315 (1968).

✓ 22 Krebinsky A. R. y Haddie J. A. Micronuclei as
a Rapid and Inexpensive Measure of Radiation.
Radiation Induce Chromosomal Damage in Man. Pro-
gress and Topics in Cyto genetics. Vol. 4 Chco.
5 pp. 93-109 (1983).

✓ 24 Littlefield L. Jorner E. DuFrain R. Hubner K.
y Beck III. Cytogenetic dose estimates from in
vivo samples from person involved in real or
suspected radiation exposure. Elsevier North
Holland Inc. 375-388 (1980).

25 Messing K. and Bradley W. In vivo mutant fre-
quency rises among breast cancer patients af-
ter exposure to high dose of gamma-radiation
Mut. Res. Vol. 152 No. 1 pp 107-112 (1985).

✓ 26 Messing K. Seifert A. y Bradley W. In vivo
mutant frequency of technicians profes-
sionally exposed to ionizing radiation. Monito-
ring Occupational Genotoxícants. Progr. in
Clinical and Biological Research. Vol. 207,
Alan R. Liss, Inc. N. Y. (1985).

27 Miholy B. y Borowki T. Citogenética Médica
Eudebe. Cap. XXI (1972).

28 Montero R. Mutaciones Genicas en Linfocitos
Humanos. Tesis de Maestría en Biología. (1986)

28A Mutchinick, O. Comunicación Personal.

29

Nelson J. A. Carpenter J. W. Rose L. M. y D. J. Adamson. Mechanisms of action of 6-thioguanine, 6-mercaptopurine and 8-azoguanine. Cancer Research. 5:2872-2878 Octubre (1975).

30

Nicklas, J. O'Neil P. y Albertini R. Use of T-cell receptor gene probes to quantify the in vivo HGPRT mutations in human T-lymphocytes. Mut. Res. 173:67-72 (1986).

31

Ostrosky-Wegman P. García G. Arellano L. Espinosa J. Montero R. y Cortinas de Nave C. Genotoxicity of Antitubercular, Anthelmintic and Antifungal Drugs in Human Lymphocytes. Sister Chromatid Exchange. 25 Year of Experimental Research. Ed. R.R. Tice y A. Hollender - Plenum Press N. Y. (1984). *páginas*

32

Reisner, Y. Comunicación Personal (1987)

33

Reyes C.P. Bioestadística Aplicada. Ed. Trilés. México 116-124 (1983).

34

Rickards, G. J. Las Radiaciones: Reto y Realidades. La Ciencia desde México 8:142-145 (1986).

35

Sagan C. ¿Quién habla en nombre de la tierra? Cosmos. Cap. XIII 2ª. Edición. Traducción del Original en Inglés. Barcelona España pp 320 - 322 (1982).

36

Sanderson B.J.S. Dempsev J.L. y Morley A. A. Mutation in human lymphocyte: Effects of X- and UV irradiation. Mut. Res. 140:223-227 (1984)

37

Strauss G. H. y Albertini R. Enumeration of 6-thioguanine-resistant peripheral blood lymphocytes in man as a potential test for somatic cell mutations arising in vivo. Mut. Res. 61:353-379 (1979).

97

38 Strauss G. Albertini R. Krusinski P. y Baug-
hnen R. 6-thioguanine resistant peripheral
blood lymphocytes in human following psore-
len, long-wave ultraviolet light (PUVA). -
Therapy. J. Inv. Derm. 73.1:211-216 (1979)

✓ 39 Srie. de Energía Minas e Industria Paraste-
tal. Accidente por Contaminación con CO-60 -
México, CNSNS IT-001 (1984).

✓ 40 Segovia N. Y Bulbulian S. La Radiactividad
en el habitat. Ciencia y Desarrollo. No. 70
Año XII:41-50 Septiembre-Octubre (1986).

41 Shows T.B. and Brown J. A. Human X-linked -
gene regionally mapped utilizing X-autosome
translocations and somatic cell hybrids. -
Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 72:2125-2129 -
(1975).

42 Svlwester D. y Albertini R. J. Confidence In
tervals and sample size calculation to com-
pare varian frequencies. Env.Mut. Vol. 7 No.
4:31-41 (1985).

43 Technical Reports Series No. 260 Biological
Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis -
for Dose Assessment. International Atomic -
Energy Agency, Vienne pp 16-27 (1986).

✓ 44 Upton A. The biological effects of low level
ionizing radiation. Sc.Am. 246 No. 2:29-37
Enero (1982).

✓ 45 Vijayelaxmi H. y Evens H. Measurement of spon-
taneous and X-irradiation induce 6-thioguan-
ine resistant human blood lymphocytes using a
T-cell cloning technique. Mut. Res. 125:
87-94 (1984).

✓ 46 Villahobos P.R. Radiobiología y Aberraciones
Cromosómicas. Rev. de la Soc. Mexicana de -
Historia Natural. Tomo XXVIII:167-177 (1967).

99

✓ 47
- World Health Organization. Ionizing Radiation. Health Hazard of the Human Environment. Chap. 14 Geneva (1972).

48
- Yunis, J. J. y Soreng L. A. Constitutive fragile sites and cancer. Science 226:1199-1204 Diciembre (1984).

49
- Yunis J.J. Chromosomal rearrangement genes and fragile sites in cancer. Clinical and Biological Implications En: Ed. De Vito, Hellman y Rosenberg. Important Advances in Oncology 1986. Lippincott Co. Pennsylvania pp 92-128 (1986).