

11245



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**CURSO UNIVERSITARIO DE
ESPECIALIZACION EN ORTOPEDIA**

INSTITUTO NACIONAL DE ORTOPEDIA

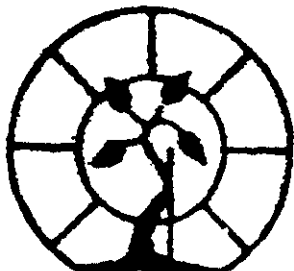
**RUPTURAS CROMOSOMICAS EN
PACIENTES MULTIRRADIADOS**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN ORTOPEDIA Y
TRAUMATOLOGIA**

P R E S E N T A

DR. BENITO ARELLANO MUÑOZ



MEXICO, D. F.

2000

27 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Dr. Luis Guillermo Ibarra Ibarra

**Director General Centro Nacional de Rehabilitación
Instituto Nacional de Ortopedia**

Dr. Antonio León Pérez

Subdirector de Investigación y Enseñanza

Dr. Saul Renán León Hernández

Jefe de La División de Enseñanza

Dr. José Carlos Guerrero Ascencio

Jefe de Enseñanza

Dr. Alejandro Antonio Reyes Sánchez

**Profesor Titular del Curso Universitario de Especialización en
Ortopedia**



Dr. Roberto Lucio Rivas Jiménez

**Jefe del Servicio de Ortopedia Pediátrica
Médico Asesor de Tesis.**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi padre Eusebio Arellano Aroña y a la memoria de mi madre María Inocencia Muñoz Sarellana (+ 22 Agosto 1999), por haberme dado la vida y guiarme por el camino del respeto, el trabajo y la lucha por la superación cada día.

De la misma manera dedico este trabajo a mis hermanos, los cuales han estado conmigo siempre en una forma u otra durante el proceso de mi formación.

De una forma muy especial dedico este trabajo al gran Maestro Dr Salvador Chavarria Vazquez, que durante mi formación académica en el área de la Medicina, me enseñó lo valioso del ser humano como persona, el respeto al paciente, a la profesión y me dio las bases para llegar al éxito.

AGRADECIMIENTOS

Ningún trabajo de tesis puede ser escrito y llevado hasta su culminación sin ayuda por lo cual, expreso mi gratitud a las personas extraordinarias que desinteresadamente colaboraron aportando ideas, sugerencias, su dedicación y experiencia, para que este trabajo pudiera ser realizado.

Ante todo he de agradecer a mi hijo Daniel Arellano y a mi esposa Rosa Reyes por su compañía y apoyo durante la larga tarea de elaborar este trabajo.

Agradezco al Dr Roberto Lucio Rivas Jiménez por la brillante asesoría brindada para lograr de manera satisfactoria y exitosa el presente trabajo.

De la misma manera agradecemos la valiosa participación de la Srita. Enf. Guadalupe Rivera Soto por su valiosa colaboración durante el tiempo que duro el estudio.

De una forma muy especial y respetuosa agradecemos la importante participación de los pacientes que formaron parte de nuestro estudio y permitir que éste fuera posible.

INDICE

Introducción.....	1
Planteamiento del problema.....	17
Justificación.....	17
Objetivo.....	17
Hipótesis.....	17
Material y Método.....	18
Resultados.....	21
Discusión.....	26
Conclusiones.....	27
Bibliografía.....	28

INTRODUCCION

Las radiaciones ionizantes (radiación compuesta de partículas ionizantes) directas o indirectas son potentes agentes mutagénicos. Durante mucho tiempo, se ha mantenido la teoría de que la carcinogénesis resulta de la mutación de una célula somática normal. Hoy predomina la idea de que el cáncer radio inducido puede ser el resultado de una serie de fenómenos en los que la mutación radio inducida constituiría un eslabón mas en la cadena. (23,29)

Bacq y Alexander Establecen que la energía absorbida después de la exposición a la radiación resulta en ionización y formación de radicales libres de hidrogeno e hidroxilo. Los radicales libres son mucho más activos que los iones y tienen una tendencia al apareamiento y formación de enlaces covalentes. La disrupción de la red resulta en alteraciones fisiológicas y del metabolismo celular. Asociadas con errores metabólicos están las transformaciones en los procesos fisiológicos y morfológicos con producción de mutaciones y / o muerte celular (7)

A la etapa física de la interacción de las radiaciones con la materia viva le siguen los fenómenos físico-químicos y químicos, pues el aumento de energía que representan la ionización y excitación para las moléculas compromete su estabilidad. Dependiendo de la importancia de la molécula afectada, la lesión biológica será más o menos importante.

La radio sensibilidad es un término que expresa la magnitud de respuesta de las estructuras biológicas, provocada por las radiaciones ionizantes. Un elemento biológico es más radio sensible cuando necesita menos dosis de radiación para alcanzar un efecto determinado. No existe célula ni tejido radorresistente de manera absoluta, pues si se aumenta ilimitadamente la dosis de radiación, siempre puede alcanzarse su destrucción. Administrando dosis mínimas en órganos o tejidos, se apreciarán diferentes grados de alteraciones morfológicas y / o funcionales según las líneas celulares de que se trate. (20,21)

El descubrimiento de los oncogenes ofrece una explicación simple e interesante; Las radiaciones ionizantes son particularmente eficaces en crear roturas cromosómicas. Si en la recombinación se produce en un cromosoma dicéntrico la célula muere habitualmente, pero, si se produce una translocación, la célula es viable. El desplazamiento de material genético hace concebible la idea de que un oncogen, suprimido en su situación previa, pueda expresarse en una nueva posición. Algunos cánceres humanos se asocian con una translocación, como el linfoma de Burkitt, que se asocia con una translocación entre los cromosomas 8 y 14 (en ocasiones 2 o 22), lo que contribuye a apoyar la teoría de los oncogenes y el movimiento de material cromosómico como causa de la carcinogénesis radio inducida. (17,14,28,30). Los oncogenes en las células humanas se encuentran localizados en los sitios donde ocurren los rompimientos de los cromosomas frecuentemente involucrados en los rearreglos estructurales que acompañan las neoplasias. Esta localización de los oncogenes coincide con la de los sitios que son conocidos como lugares frágiles de los cromosomas, los cuales son

susceptibles al rompimiento cuando las células están expuestas a la acción de los agentes mutagénicos ambientales.(28,15)

El acontecimiento bioquímico clave del ciclo es la reduplicación de los filamentos de DNA que forman los cromosomas (interfase). La reduplicación del DNA puede detectarse gracias a la auto radiografía, (marcar isotópicamente con timidina - precursor que se incorpora en las moléculas de DNA sintetizadas de nuevo). Los cambios inducidos en el ADN se reflejan en los cromosomas, si estos no son reparados. Por otra parte los cambios estructurales (roturas) producidos por la radiación directa sobre los cromosomas resulta importante. La alteración de los cromosomas puede ser por acción directa o indirecta. Los cambios estructurales importantes que se producen en los cromosomas se denominan aberraciones, lesiones o anomalías las cuales pueden ser:

Rotura simple en un cromosoma o cromátida

Roturas múltiples en un cromosoma o cromátida

Adhesión o apelsonamiento de cromosomas. (14,17,32,33)

Las consecuencias generales de estos cambios estructurales pueden ser: restitución sin lesión, lesión del cromosoma por defecto o por exceso. Una lesión cromosómica de este tipo que repercutirá en la célula y su porvenir cariocinético, según el tipo de célula afectada ya sea somática o germinal. En ambos casos la lesión será más o menos grave, pero en las células somáticas sólo revisten importancia para individuo irradiado, mientras que los cromosomas alterados de

las células germinales pueden transmitirse y tener consecuencias sobre toda la especie. (7,9,20,22)

El mecanismo por el que se produce la muerte en interfase no está muy relacionado con la mitosis sino con cambios bioquímicos de la célula. Las células que están en mitosis durante la radiación terminan la división pero aquellas que están a punto de dividirse se retrasan en G2 y se conoce como retraso en la división y puede inducirse con dosis de solo 0.1 Gy; una dosis de 3 Gy la población no recupera su índice mitótico normal. Al aplicar estas dosis entra en juego un tercer mecanismo, el fallo reproductivo, en el que las células se dividen pero mueren después de hacerlo; y se define como la incapacidad de la célula para experimentar divisiones después de la irradiación y se consideran biológicamente muertas y las teorías que se han propuesto son: (20,14,25)

Alteración de algún mediador químico que intervenga en la división.

Ausencia de síntesis de proteínas necesarias para la mitosis.

Disminución de la velocidad de síntesis de ADN.

En el hombre no está bien determinada la dosis letal DL 50/30, pero en base a los accidentes atómicos y por correlación con otras especies se sitúa entre 3.5 y 4.5 Gy. (5,1,17)

En las últimas dos décadas la citogenética se ha caracterizado por la aparición de una gran variedad de nuevos métodos, que han permitido ampliar el

campo de acción tanto de los citogenetistas como de los biólogos moleculares. El advenimiento de las técnicas de bandas permitió por primera vez la identificación precisa de cada par de cromosomas homólogos y correlacionar adecuadamente las anomalías cromosómicas con cuadros clínicos específicos. Los logros obtenidos en biología molecular e ingeniería genética, han revolucionado la citogenética al mapear genes responsables de algunas enfermedades.

Por otro lado, la utilización de diferentes medios y/o condiciones de cultivo celular, también han permitido el desarrollo de nuevas técnicas citogenéticas. Por ejemplo, el intercambio de cromátidas hermanas, el bandeado de alta resolución y la expresión de sitios frágiles, entre otras, han tenido gran utilidad para establecer un diagnóstico más preciso.

Se ha informado que algunos individuos se observan, aunque en baja proporción, rupturas cromosómicas espontáneas, y que estas, ocurren generalmente en loci específicos. Las rupturas se incrementan por exposición a diferentes agentes clastogénicos, medios de cultivo deficientes en ácido fólico o por aquellos agentes que perturban la reserva de nucleótidos. A las regiones que están predispuestas a rupturas se les conoce como sitios frágiles.

La fragilidad cromosómica se expresa como rupturas o gaps distribuidos no al azar a lo largo de los cromosomas (38). Riffie y colaboradores en 1964 (39) reportaron una constricción acromática en un cromosoma del grupo C en la mayoría de las células de un paciente con leucemia mieloblástica. Posteriormente

Dekaban (1965) (40) informo un gap en la parte distal del brazo largo del cromosoma 9 en una mujer irradiada. En 1968 Lejeune y colaboradores (41) fueron los primeros en señalar que la fragilidad cromosómica era heredable al describir una constricción en el brazo largo del cromosoma 2, en una madre y en su hija.

Por otra parte, Brogger (1968) (42) utilizando preparaciones cromosómicas sin bandear, describió una alta incidencia de rupturas en el cromosoma 3 en la región que corresponde a la banda 3p14 (43). Lubs (1969) (44) reporto una familia en la cual diversos miembros tenían un gap en la porción distal de los brazos largos del cromosoma X y solo los miembros masculinos de esta familia presentaban retraso mental.

Los sitios frágiles (SF) son puntos específicos en los cromosomas que están predispuestos a sufrir rupturas cuando los cromosomas son expuestos a determinadas condiciones de cultivo, sobre todo durante la fase S del ciclo celular. Usualmente aparecen como un gap o una constricción, implicando una o ambas cromátides de un cromosoma metafásico. Con menor frecuencia, el sitio puede sufrir una ruptura completa produciendo un fragmento acentrico que puede perderse o en ocasiones ser selectivamente duplicado dando la apariencia de figuras trirradiales (38).

La citogenética tiene cada vez mayor utilidad para estudiar el efecto de las sustancias mutagénicas, valorando la presencia de aberraciones numéricas o

estructurales. Además pueden encontrarse: porciones de cromosomas rotos que no tienen centromero y que se llaman fragmentos; porciones no teñidas en una cromátide, denominadas brechas, o sobre las 2 cromátides, isobrechas; verdaderas fracturas con desplazamiento de las porciones cromosómicas o la presencia de muy pequeños fragmentos cromosómicos llamados minutos. (28,15)

En 1977 Sutherland (45) reexaminó el caso previamente descrito por Lejune (1968) (41), tratando de encontrar el SF en el cromosoma 2, sin embargo éste ya no se expresaba. Buscando la explicación para este fenómeno, descubrió que la frecuencia de lesiones en el SF dependía del tipo de medio de cultivo utilizado. Realizó cultivos paralelos de linfocitos en diferentes medios de cultivo disponibles comercialmente y contó la presencia de lesiones en el SF en diversas ocasiones. Los resultados mostraron que las rupturas en el SF eran más elevadas cuando usaba medio 199 que en cualquier otro medio utilizado. Posteriormente se demostró que el medio TC 199 era relativamente bajo en Acido Fólico (AF) (46).

Los métodos de inducción de SF implican, directa o indirectamente, cambios en la reserva intracelular de nucleótidos. la composición de esta reserva está controlada por una compleja serie de reacciones de interconversión de nucleótidos, las cuales tienden a mantener la homeóstasis celular. (47).

Chaudhuri (1972) (48) analizando la naturaleza de los gaps cromatídicos concluyó que resultan de una extremada despiralización del DNA debido a la falta de condensación de los cromosomas metafásicos. El considera que hay cuatro

factores implicados en la condensación de los cromosomas: el DNA, las histonas, proteínas no histonas y cationes divalentes.

Sutherland realizó un trabajo de notable interés cuando hizo crecer células en medios de cultivo deficientes en ácido fólico y timidina, o cuando las células crecían en los medios usuales pero eran expuestas a agentes que inhiben la síntesis de timidilatos. En tales condiciones, aparecen en los cromosomas sitios que no se tiñen bien y que parecen brechas o gaps y que han recibido el nombre de sitios frágiles. Los sitios frágiles han sido clasificados como sitios frágiles constitutivos (c-fra) y sitios frágiles heredables (h-fra). Los primeros son casi un centenar en los cromosomas humanos, se expresan en forma homocigota en por lo menos 3% y su localización guarda relación con los sitios de ruptura de los rearrreglos estructurales de los cromosomas. Los h-fra son casi siempre expresados en forma heterocigota, se heredan en forma mendeliana codominante y alcanzan casi una veintena, se expresan del 10-30% de las células. (28)

Las células presentan diferente grado de sensibilidad según su estirpe y se dividen en: (18,14,17,24)

a-Muy radiosensibles: Linfocitos, eritroblastos, espermatogonias.

b-Relativamente sensibles: Células de la granulosa, mielocitos, células de las criptas intestinales, Células basales de la epidermis.

c-Sensibilidad intermedia: Células endoteliales, células de las glándulas gástricas, osteoblastos, condroblastos, espermatoцитos, espermátidas.

d-Relativamente radiorresistentes: granulocitos, osteocitos, espermatozoides, eritrocitos.

e-Muy radiorresistentes: Fibrocitos, condrocitos, células musculares, células de los nervios.

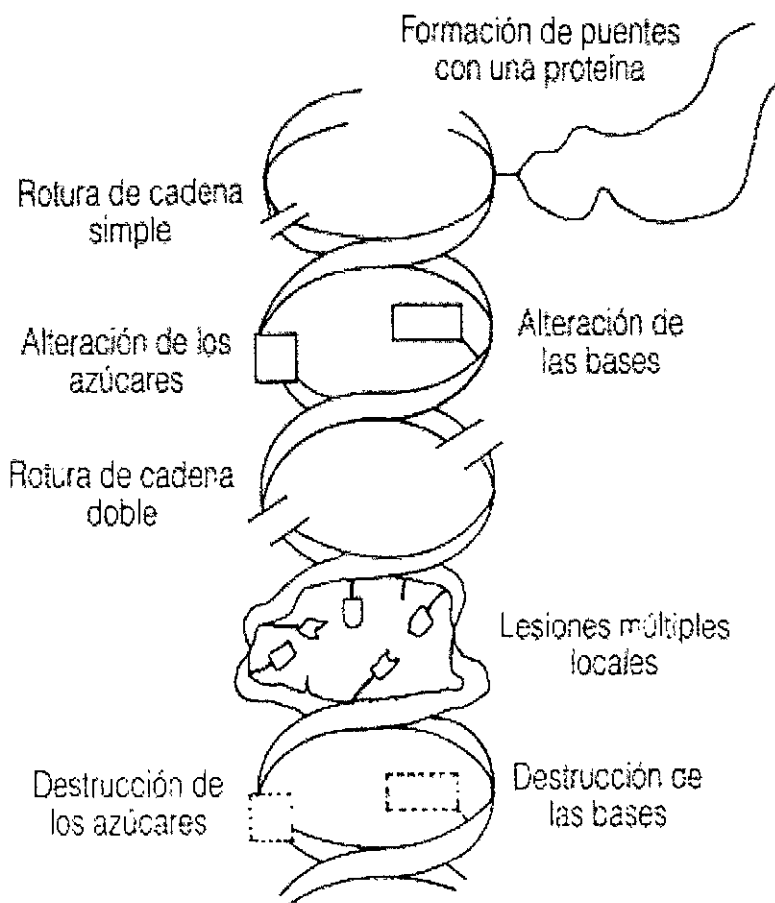
f-Ley de Bergonie y Tribondeau:

Por tanto, una célula es tanto más radiosensible cuanto más largo sea su actividad reproductiva (actividad mitótica), es mas radiosensible cuanto más largo sea su porvenir carioquinético, es decir cuantas divisiones deba cumplir en el futuro por lo que una célula menos diferenciada presenta una mayor radiosensibilidad. (18,14,17,24)

La acción de las radiaciones ionizantes sobre los seres vivos presenta 3 características principales: es aleatoria, no selectiva e inespecifica.

Las radiaciones pueden generar diferentes tipos de lesiones en las moléculas de ADN. Las lesiones mejor conocidas son:

- 1.-Las roturas de cadena (simples o dobles).
- 2.-La alteración de las bases.
- 3.-La destrucción de los azúcares y los puentes.
- 4.-La formación de dímeros.
- 5.-Lesiones voluminosas o lesiones múltiples locales.(14)



Niveles Orientativos de dosis aplicables en Radiografía Diagnóstica

Dosis Entrada en superficie por radiografía (mGy)

EXAMEN		NBS		EE.UU.b	CE
		Vel:200	Vel:200	Vel:400	Vel:400
	AP	10	5	3	10
C. lumbar	LAT	30		30	
	ASL	40		40	
Abdomen	AP	10	4.5	2.5	10
Pélvis	AP	10			10
Art. Cadera	AP	10			
Cráneo	PA	5	1.5	6	5
	LAT	5			3

Radiology, NRPB, 1992, Radiographic Images.EUR 16260;1996

Niveles Orientativos de Dosis Aplicables en TAC

Examen	NBS	Dosis (mGy)		
		EE.UU.	DLP	CE
	MSAD	MSAD CTDI	DLP	CE
Cabeza	50	34-68	58	1050
C.Lumbar	35			
Pelvis			33	570

European Commission. EUR 16262; 1997

El número de roturas simples crece proporcionalmente con la dosis. Una dosis de radiación X de 1 a 1.5 Gy es capaz de inducir 1,000 roturas simples y unas 50 – 100 dobles por célula, es decir una ruptura doble por cada 10 – 20 simples

La protección radiológica del paciente ha llevado a la comunidad Europea a fijar medidas fundamentales para conseguirla sin menoscabo de la calidad y eficacia del acto radiológico médico. En México la norma número NOM 157 (50) evita exposiciones inadecuadas o excesivas, en el uso de las radiaciones en el plano de la detección precoz diagnóstica o tratamiento de las enfermedades, atendiendo así a las recomendaciones formuladas por la comisión internacional de protección radiológica, Organización mundial de la Salud y el comité científico de las naciones unidas para el estudio de los efectos de las radiaciones ionizantes. (34,49)

De acuerdo a las recomendaciones de la comisión internacional de protección radiológica CIPR de 1977, los límites anuales de dosis equivalente son de 50 mSv para el personal ocupacionalmente expuesto (POE) y de 5 mSv para el público, sin embargo en 1990 La misma CIPR baja los límites anteriores a 20 mSv y 1 m Sv respectivamente.(36)

"La cantidad de radiación natural varía según el lugar de la tierra que se considere, pero siempre está presente según NRPB National Radiological Protection Board de Gran Bretaña".(14)

La protección al público en radiodiagnóstico se obtiene con blindaje. En conclusión al calcular un blindaje para protección al público es recomendable utilizar el límite de 1 mSv/año, aun cuando los límites establecidos en reglamentos nacionales, como es el caso de México aún conserve el límite de 5mSv.(36, 50)

Otra forma de proteger áreas específicas es empleando blindajes, para los casos en que quedan dentro del haz útil como cuando quedan muy cerca del borde del campo, se deberán usar siempre que no alteren la finalidad diagnóstica. Los blindajes son de dos tipos de contacto y de sombra. Pueden ser planos o con forma específica, se colocan directamente sobre los órganos del paciente; los de sombra son materiales radiopacos de diferentes formas y dimensiones, que se intercalan entre el tubo y el paciente de manera que proyecten una sombra sobre el área a proteger, pueden ser piezas metálicas o placas transparentes de plástico emplomado. Están hechos con telas cuyo espesor equivale a 0.25, 0.50 y 1.0 mm de plomo; el blindaje de contacto para gónadas femeninas reduce la dosis en 50% mientras la concha para testículos la reduce en 95%, el resto se debe a radiación dispersa y no puede evitarse.(49, 51)

Sin embargo, una de las causas que más contribuye a la dosis del paciente es la repetición de placas, tanto las debidas a rechazo del médico como a las que no satisfacen al propio técnico, la tasa de repetición varía de 3 a 15% (aunque es difícil bajar del 5%), la mayor parte se deben a que son demasiado oscuras o demasiado claras y por errores en la posición del paciente.(36)

En México cuando en 1895 Wilhem Conrad Roentgen comunico su histórico descubrimiento a la academia de ciencias de Berlín, se encontraba en la capital de Alemania el caballero potosino don Luis Espinosa; a su retorno a la ciudad de San Luis Potosí en 1896, lleva consigo una maquina de Roentgen, posiblemente la primera que hubo en México y se disputa la primacia con el aparato que para el Hospital Juárez trajo. el Dr. Tobias Nuñez ese mismo año (37). Los rayos X fueron usados por primera vez el 24 de octubre de 1896, en La sala 11 del Hospital Juárez, por el Dr. Tobias Nuñez

Los niños por su mayor sensibilidad a la radiación y su expectativa de vida mas larga, merecen una atención especial para reducir la dosis con criterio ALARA. Si, bien, por su menor espesor, puede obtenerse una imagen con suficiente densidad empleando menos corriente que para un adulto, la posibilidad de que se muevan, su mayor rapidez de respiración y la poca colaboración que puede esperarse, aumentan la probabilidad de repetir placas, por ello es conveniente utilizar inmovilizadores y el tiempo de exposición mas corto posible, así como buscar la mejor relación y compenetración con el niño para facilitar el trabajo.(36)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Conocer si una muestra de pacientes en edad Pediátrica tratados en el Instituto Nacional de Ortopedia sometidos a múltiples estudios de radiodiagnóstico presentan o no rupturas cromosómicas.

JUSTIFICACION

Exponer al paciente a radiaciones ionizantes por encima de niveles permisibles internacionales puede condicionar daño a la molécula de DNA y este pueda manifestarse a través de diferentes alteraciones citogenéticas como son la ruptura cromosómica o formación de gaps.

OBJETIVO

Estudiar citogenéticamente una muestra de pacientes en edad Pediátrica multirradiados, para conocer si presentan daño en la molécula de DNA.

HIPOTESIS

La exposición repetitiva a radiación ionizante (estudios de radiodiagnóstico), presentan daño a la molécula de DNA.

MATERIAL Y METODO

En el periodo comprendido de 1990 a 1999 en el servicio de Ortopedia Pediatrica del Centro Nacional de Rehabilitación – Instituto nacional de Ortopedia, se seleccionó en forma aleatoria los expedientes radiológicos de 9 pacientes multirradiados: 3 pacientes con diagnostico de artritis séptica de cadera (ASC), 2 pacientes con diagnóstico de displasia del desarrollo de la cadera (DDC) y un paciente para cada uno de los siguientes diagnósticos: enfermedad de Charcot-Marie-Tooth. (CHMT), mielomeningocele (MMC), coxartrosis y un paciente Politraumatizado

Nuestra base de datos se integro con los siguientes datos: nombre, registro, diagnostico, sexo, edad y evolución de su padecimiento, así mismo, se determino en cada uno de ellos el número de placas radiográficas a las que han sido expuestos contabilizando las mismas por año, tomando en forma independiente el conteo de radiografias simples, tomografía Lineal (TL) y Tomografía Axial Computarizada con reconstrucción tridimensional (TAC).

En todos los casos los pacientes aceptaron participar en el estudio mediante una carta de consentimiento informado firmada por sus padres por ser menores de edad.

Se procedió a obtener una muestra de sangre venosa periférica de 5 ml, a partir de la cual se realizaron las preparaciones cromosómicas de linfocitos, utilizando medio de cultivo deficiente en ácido fólico para la inducción de sitios frágiles utilizando la siguiente técnica:

I	Medio de cultivo RPMI – 1640 deficiente en ácido fólico	100 ml
	Suero fetal bovino	5 ml
	Penicilina – Estreptomicina (10,000U/ml – 10 mg/ml)	1 ml

II Procedimiento de cultivo de linfocitos

1.- Tomar una muestra de 5 ml de sangre venosa por paciente con una jeringa heparinizada en condiciones de asepsia.

2.- Adicionar 10 ml de medio suplementado en un tubo estéril.

Utilizar dos tubos por cada muestra.

3.- Agregar 0.5 ml de fitohemaglutinina M a cada tubo.

4.- Adicionar de 0.7 a 1.0 ml de sangre periférica.

5.- Incubar los tubos en forma inclinada a 37 grados centígrados por 96 horas.

6.- Adicionar a los tubos 0.5 ml de colchicina al 0.02% una hora y media antes de las 96 horas y reincubar a 37 grados centígrados hasta completar el tiempo de cultivo.

III Procedimiento para la cosecha de Linfocitos.

1.- Después de haber incubado una hora y media con colchicina centrifugar los tubos a 3,500 RPM durante 5 minutos. Decantar sobrenadante.

2.- Adicionar 5 ml de una solución hipotónica de KCL 0.0375 M a cada tubo y

agitar para resuspender el botón celular.

3.- Incubar a 37 grados centígrados durante 30 minutos.

4.- Pasados los 30 minutos volver a centrifugar, decantar el sobrenadante, resuspender el botón celular y agregar gota a gota y en agitación continua 5 ml de una solución fijadora recién preparada de Metanol-Ac.Acético (3 partes de metanol y una parte de ácido acético).

5.- Dejar reposar los tubos a temperatura ambiente durante 30 minutos.

6.- Pasado el tiempo anterior, centrifugar los tubos, decantar el sobrenadante, y volver a agregar en agitación 5 ml de solución metanol-acido acético (no es necesario agregarlo gota a gota).

7.- Repetir el paso numero 6 cinco veces mas, hasta obtener un botón celular blanco y un sobrenadante transparente.

8.- Para realizar las preparaciones cromosomicas centrifugar por ultima vez, decantar el sobrenadante y resuspender las células con unas 10 gotas de solución fijadora. Tomar con una pipeta pasteur la suspensión celular y de una altura aproximada de 20 cm dejar caer 3 gotas en un portaobjetos que este bien limpio y desengrasado. Dejar secar.

9.- Teñir las laminillas por 3 minutos con Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de buffer de fosfatos pH 6.8), lavar con agua corriente y dejar secar.

10.- Contar 25 metafases por individuo, revisar si hay gaps o rupturas cromosomicas.

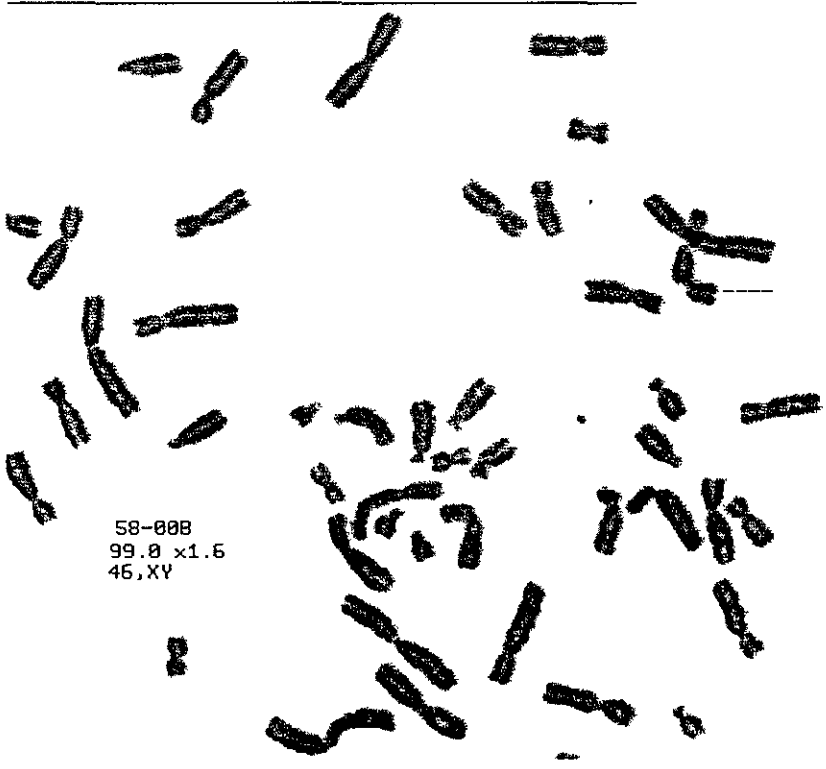
El análisis estadístico se realizó a través del “Coeficiente de Correlación de Pearson” (r) con un valor de significancia estadístico cuando la $p < 0.05$.

RESULTADOS

La distribución de la muestra fue de la siguiente manera: 4 pacientes del sexo masculino, 5 del sexo femenino; con un rango de edad de 2 a 16 años en el momento del estudio, con una media de 8.4 años de edad.

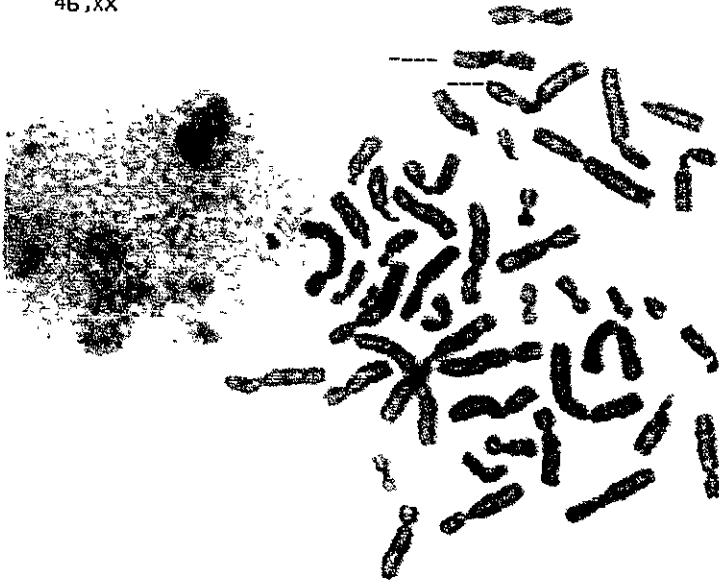
El número de exposiciones por año del total de la muestra se ejemplifica en la tabla No. 1. Del total de pacientes resalta que los tres pacientes con diagnóstico de artritis séptica de la cadera cuyas edades de 7 , 10 y 16 años al momento del estudio fueron sometidos a un promedio de 71.3 placas radiográficas (rango de 57 a 83 radiografías), además de tener 5 estudios de tomografía axial computarizada de los 7 registrados y dos de tres de los estudios de tomografía lineal.

Ejemplo 1: Paciente masculino con diagnóstico de artritis séptica de la cadera al nacimiento y edad actual de 7 se le han practicado 83 estudios de radiodiagnóstico , 1 estudio de tomografía lineal y tres tomografías computarizadas por lo que en su estudio citogenético se reporto 5 rupturas cromosómicas en 25 células estudiadas lo cual equivale al 20% de la muestra (Tabla No. 2 – Análisis cromosómico).



Ejemplo 2: Paciente femenino de 6 años de edad con diagnóstico de artritis séptica de la cadera diagnosticada al nacimiento. Sometida hasta el momento a un total de 74 estudios de radiodiagnóstico, 1 estudio de tomografía lineal y una tomografía axial computarizada con reconstrucción tridimensional lo cual condiciono al estudio citogenético de 20 células, 4 rupturas cromosómicas lo cual equivale al 20% de la muestra.

34-9982 (b)
85.8 x 8.8
46,XX



Ejemplo 3: Paciente femenino de 5 años de edad con diagnóstico displasia del desarrollo de la cadera bilateral diagnosticada a los 18 meses de edad. Sometida hasta el momento a un total de 29 estudios de radiodiagnóstico sin tomografía lineal o tomografía axial computarizada. El reporte del estudio citogenético de 20 células mostró 6 rupturas cromosómicas lo cual equivale al 30% de la muestra.

ar

30-99 (C)
46,XX
89.9 x 11

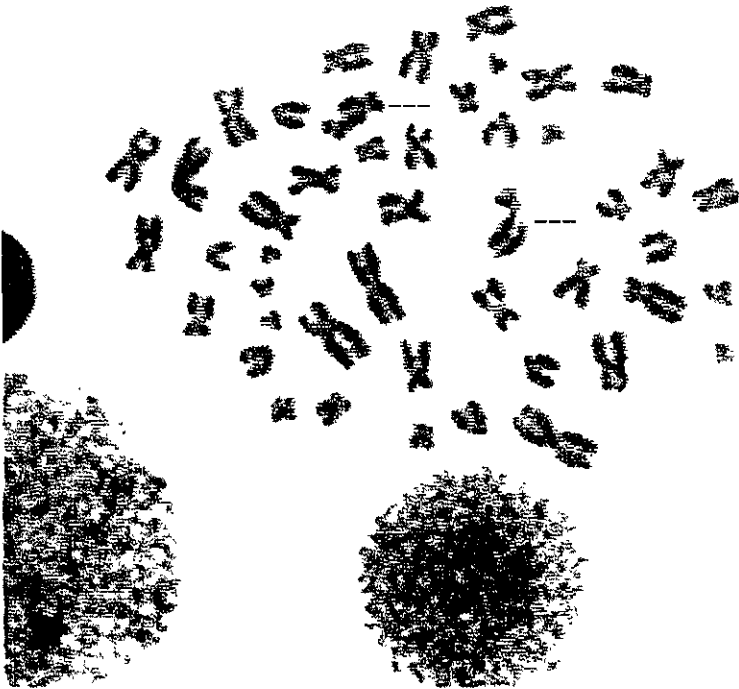


TABLA 1

NUMERO DE EXPOSICIONES POR AÑO

Paciente	Total	DX	93	94	95	96	97	98	99	TL	TAC
1	83	ASC	4	37	6	0	5	8	4	1	3
2	74	ASC	0	0	4	6	16	16	12	1	1
3	57	ASC	6	19	10	6	4	3	5	0	1
4	9	CHMT	0	0	0	0	0	0	9	0	0
5	7	MMC	0	0	0	0	0	0	7	0	0
6	47	Coxartrosis	0	0	0	0	3	15	29	1	2
7	27	DDC Izq.	0	0	0	0	0	7	20	0	0
8	16	Politrauma	0	0	0	0	0	0	16	0	0
9	29	DDC BIL.	0	0	0	5	4	14	6	0	0

TABLA 2

ANALISIS CROMOSOMICO

Paciente	Sexo	Edad	Diagnostico	Células analizadas	Células con rupturas	%
1	M	7	ASC	25	5	20
2	F	6	ASC	20	4	20
3	F	16	ASC	20	5	25
4	F	10	CHMT	20	2	10
5	F	5	MMC	20	0	0
6	M	15	COXARTROSIS	20	0	0
7	M	2	DDC IZQUIERDA	20	0	0
8	M	10	POLITRAUMATIZADO	20	5	25
9	F	5	DDC BILATERAL	20	6	30

DISCUSION

En la literatura mundial la mayoría de los estudios relacionados con el abuso de radiación ionizante de uso diagnóstico están encaminados a la búsqueda de cáncer inducido, sin embargo, no encontramos antecedente alguno del estudio citogenético en una muestra de pacientes en edad pediátrica multirradiados.

Los resultados a los que nos enfrentamos en esta pequeña muestra de pacientes nos hacen reflexionar sobre la relación directa del número de exposiciones en un corto periodo de exposición durante el estudio y tratamiento de diferentes patologías (ej. artritis séptica de cadera o la displasia del desarrollo de la cadera) sobre el porcentaje de lesiones en la molécula del DNA y en consecuencia los cromosomas alterados de las células germinales podrían transmitirse y tener consecuencia sobre toda la especie.

Durante el estudio de pacientes con afección al sistema musculoesquelético el uso y abuso de las radiaciones ionizantes con fines diagnósticos, trans operatorios y de seguimiento hacen una de las áreas médicas con mayor riesgo ante las posibles complicaciones que se derivan de la relación directa del número de rupturas simples que crecen proporcionalmente con la dosis recibida.

La objetividad del estudio deberá tomarse con cautela, ya que para poder expresar una relación directa de la exposición a la radiación ionizante con fines diagnósticos y la presencia de lesiones a la molécula del ADN será necesario incluir un número mayor de casos, así como el incluir controles sanos.

CONCLUSIONES

El uso de radiaciones ionizantes con fines diagnósticos es capaz de generar daño a la molécula de DNA (gaps, rupturas).

La susceptibilidad individual al daño cromosómico es heterogénea.

El empleo de los procedimientos radiológicos con fines diagnósticos deberá conducirse bajo indicaciones reales y precisas.

Reducir la exposición a radiación ionizante excesiva en pacientes Pediátricos con el fin de disminuir el riesgo de rupturas cromosómicas.

Concientizar al Ortopedista general y de subespecialidad de los riesgos secundarios a la sobre exposición de estudios de radiodiagnóstico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bardhan, Posible asociación between radiation exposure and chromosome changes, *The Lancet* 15: 1981.
2. Barney; Effect of Roentgen Rays on Bone Growth and Bone Regeneration, An Experimental Study, From the Department of Surgery, Vanderbilt University, *Am. J Surg.* 20: 1993.
3. Boice, The Danger of X - Rays - Real or Apparent?, *The New England Journal of Medicine*, 315(13): 1986.
4. Brogger, Virus som arsak til kromosomaberrasjoner hos menneske. *Tidsskr Nor Laegeforen* 88: 1968.
5. Canale, *Tratado de Ortopedia Pediatrica*, Mosby year book, primera edición en español, 1992.
6. Ciola, Genetic effects of radiation, *Dental Clinics of North America*, 19(1): 1975.
7. II Curso internacional de integración en imagenología, Instituto Mexicano del Seguro Social 1998.
8. Curso de protección radiológica y garantía de calidad en el diagnóstico médico con rayos X, México DF, 1998.
9. Chaudhuri, On the origin and nature of achromatic lesions. *Chromosomes today* 3: 1972.
10. Cheng, Femoral lengthening after type IVB septic arthritis of the hip in children, *Journal of Pediatric Orthopaedics*, 16(4): 1996.
11. Dekaban, Persisting clone of cells with an abnormal chromosome in a woman previously irradiated. *J Nucl Med* 6(740): 1965.
12. Douglas, Genetic problems related to radiology practices, *Radiology*

105: 1972.

13. Evans, The Influence of Diagnostic radiography on the Incidence of breast Cancer and Leukemia, The New England Journal of Medicine, 315(13): 1986.

14. Fawcett, Tratado de histología, 11 edición, editorial interamericana, 1987.

15. Fikry, Department of Radiology, Orthopedics y Pathology, the Mount Sinai Medical Center of the City University of New York, New York, USA, Radiation-induced Leiomyosarcoma, Skeletal Radiol, 24:1995.

16. Fox, Radiation damage and repair phenomena, Br. Med. Bull. 29(1): 1973.

17. Franklin, Postradiation Sarcoma of Bone, From the Mayo Clinic and Mayo Foundation, Rochester, Minnesota, The Journal of Bone and Joint Surgery, 54-A(7): 1972.

18. Fromm, Septic arthritis of the hip in an adult following repeated femoral venipuncture, orthopedics, 19(12): 1996.

19. Gil, 1997, manual de radiología clínica, editorial harcourt brace, primera edición, 1997.

20. Giraud, Constitutional chromosomal breakage. Hum Genet 34: 1976.

21. Guizar, Genética clínica, primera edición, editorial manual moderno, 1988.

22. Hecht, Rare, polymorphic, and common fragile sites: a classification. Hum Genet 34(202): 1986.

23. Henry, Radiation Carcinogenesis, From the department of radiation therapy, Harvard medical School, Boston, The New England Journal of medicine, 310(8).

24. Herbert, The overutilization of X-rays, The New England Journal of Medicine, 300(21): 1979.

25. Jackson, Etiology and management of acute suppurative bone and joint in pediatric patients, J pediatric orthop 2(313): 1982

26. Klein, Sensitivity of objective parameters in the diagnosis of pediatric septic hips, Clinical orthopaedics and related research, 338: 1997.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

27. Kormos, Micronuclei in X - irradiated human lymphocytes, *Mutation Research*, 199, 1988.
28. Leading articles, Lymphocytes as index of radiation, *British Medical Journal* 12: 1966.
29. Lejeune, Endoreduplication selective du bras long du chromosome 2 chez une femme et sa fille. *C R Acad Sci* 266(24): 1968.
30. Lloyd, The incidence of unstable chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from unirradiated and occupationally exposed people, *Mutation Research*, 72: 1980.
31. Lubs, A marker X chromosome. *Am J Hum Genet* 21(231): 1969.
32. Lunseth, Prognosis in septic arthritis of the hip in children, *Clinic orthop* 139(81): 1979.
33. Malkinson, *Some Principles of radiobiology: a selective review*, *The Journal of Investigative Dermatology*, 76(5), 77(1): 1981.
34. Matsubara, Radiation injury in a patient with unusually high sensitivity to radiation, *Acta Oncologica*, 27, (1988), Fasc. 1.
35. Matsubara, Effects of contrast medium on radiation-induced chromosome aberrations, *Radiology*, 144(2): 1982.
36. Morrey: Suppurative Arthritis of the hip in children, *J bone and joint surg* 58 A: 1976.
37. Muller, Biological indicators for radiation damage, *Int. J. Radiat. Biol.*, 59(4): 1991.
38. NBS Normas básicas internacionales para la protección contra las radiaciones ionizantes y para la seguridad de las fuentes de radiación. STI/PUB/996, OIEA 1997.
39. Norma oficial Mexicana NOM-157-SSA1-1996, Salud ambiental. Protección y seguridad radiologica en diagnostico médico con rayos X (D.O.29-09-97)
40. Reisman, Effects of diagnostic X rays on chromosomes in infants: A preliminary report, *Radiology* 89: 1967.
41. Ruffie, Modifications de groupes sanguins dans un cas de leucose

myeloblastique. *Nov Rev Francaise hemato.*, seance du 17(2): 1964.

42. Rugh, Does X - radiation of the preconceptional mammalian ovum lead to sterility and/or congenital anomalies?, *Fertility and sterility*, 26(6): 1975.

43. Salamanca, *citogenetica humana*, primera edición, editorial panamericana, 1990.

44. Schinz, *Tratado de Roetgendiagnostico*, Editorial científico médica 1971, Sexta edición, tomo I.

45. Statkiewicz, *Radiation protection in medical radiography*. Statkiewicz-Sherer, Visconti & ritenour. 2nd Ed. Mosby-Year Book inc 1993.

46. Sutherland, Fragile Sites on human chromosomes: Demostration of their dependence on the type of tissue culture medium. *Science* 197: 1977.

47. Sutherland, Heritable fragile sites on human chromosomes I. Factors affecting expression in lymphocyte culture. *Am J Hum Genet* 31: 1979.

48. Sutherland, The role of nucleotides in human fragile site expresion. *Mutat Res* 200: 1988.

49. Tachjian, *Ortopedia Pediatrica*, Editorial interamericana, Tomo II, 1994.

50. Terui, role of technetium-99m pertechnetate scintigraphy in the management of extra-abdominal fibromatosis, *Skeletal radiology*, 24, 1995.

51. Thometz, Microbiological tolerance in orthopaedic infections: delayed response of septic arthritis and osteomyelitis of the hip due to infection with tolerant staphylococcus aureus, *Journal of Pediatric Orthopaedics*, 16(4): 1996.

52. Wilkins, *The Influence of Roentgen Rays on The Growth and Phosphatase Activity of Bone*, From the Departaments of Biochemistry and Surgery, Vanderbilt University School of Medicine, *Radiology* 22: 1934.