

DOSIMETRÍA CITOGÉNICA EN TRABAJADORES DE LA SALUD OCUPACIONALMENTE EXPUESTOS A RADIACIONES IONIZANTES

Martínez, A. M.¹, Riaño, G.L.², Rodríguez, C.A.³

¹⁻³ Universidad Distrital Francisco José de Caldas
Licenciatura en Química
Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología Nuclear
Bogotá. Colombia

RESUMEN

Esta propuesta de investigación en desarrollo, tiene como objetivo identificar posibles alteraciones cromosómicas en trabajadores de la salud en riesgo de exposición (TOE) a bajas dosis de radiaciones ionizantes (X y gamma), a partir de protocolos de técnicas citogenéticas, que establece el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) y el Instituto Nacional de Salud (INS), sobre aberraciones cromosómicas (AC) y micronúcleos (MN), en cultivos *in vitro* de sangre periférica, que permitan determinar la dosis en las curvas dosis-respuesta realizadas en trabajos anteriores por otros investigadores del grupo, y para ser consecuentes con las recomendaciones de la reciente Conferencia Internacional sobre Protección Radiológica Ocupacional (Viena Austria, diciembre 2014), y además como contribución para que Colombia disponga de estos estudios que complementen la dosimetría física, a pesar de las medidas de protección radiológica.

1. INTRODUCCIÓN

A continuación se muestran las diferentes aplicaciones de la radiación ionizante en el área de la salud y sus respectivas medidas de protección. Existe una gran variedad de aplicaciones de las radiaciones ionizantes, por ejemplo en investigación básica, en salud (radiodiagnóstico, medicina nuclear, etc.) y en la industria (radiografía X y gamma), huellas de fisión, datación, entre otras), sin embargo, su uso incorrecto puede causar posibles efectos negativos en el organismo, que inducen a la generación de enfermedades agudas, crónicas e incluso la muerte [1].

Quienes están constantemente expuestos a este tipo de radiaciones es el personal médico (cardiólogos, radiólogos, médicos nucleares, enfermeras, etc.), motivo por el cual se han hecho diversos estudios a nivel mundial para determinar las alteraciones cromosómicas, efectos sobre el mecanismo de reparación de ADN, traducción y transmisión de señales intra e inter celulares e hipersensibilidad a las dosis bajas [2].

En el año 2002 el OIEA celebró en Suiza la primera conferencia internacional sobre radioprotección, donde participaron, la Organización Internacional del Trabajo (OIT), la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia de Energía Nuclear (NEA), la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), el Comité Científico

¹ adri_marce1992@hotmail.com ² ginethxxlorena_10@hotmail.com ³ carc-88@hotmail.com

de las Naciones Unidas sobre los Efectos de las Radiaciones Atómicas (UNSCEAR), la Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP), la Comisión Internacional de Unidades y Medidas Radiológicas (ICRU), la Comisión Electrotécnica Internacional (IEC), la Asociación Internacional de Protección Radiológica (IRPA) y la Sociedad Internacional de Radiología (ISR), con el fin de establecer un plan de acción internacional que permita reforzar la protección radiológica ocupacional en campos como la medicina y la industria minera (cuya mayor exposición se debe a NORM, “*Naturally Occurring Materials Radioactive*”). Para revisar los avances y retos propuestos en la anterior encuentro, se llevó a cabo en el 2014 (Viena, Austria) una nueva conferencia internacional, donde se intercambiaron experiencias e información sobre la protección radiológica ocupacional y mujeres en embarazo, para formular conclusiones y recomendaciones [3].

Por tal motivo, es importante incentivar los estudios en Colombia sobre los efectos de la radiación ionizante desde lo epidemiológico, biológico y genotóxico, para mejorar las acciones de protección y prevención de riesgos profesionales, por ende esta investigación pretende identificar, por medio de pruebas citogenéticas, las aberraciones cromosómicas en personal voluntario, entre los que se encuentran, físicos médicos, radiólogos y médicos nucleares, expuestos a bajas dosis de radiaciones (X y gamma), mediante la *técnica de micronúcleos y aberraciones cromosómica*, como indicadores biológicos de mayor sensibilidad a dichas radiaciones.

1.1. Dosimetría

Al existir trabajadores en riesgo de exposición a bajas dosis de radiación ionizante se necesita un sistema para la medición y el registro de las dosis absorbidas, a partir del uso de la dosimetría física y biológica. La primera, consiste en un control personal de dosis, mediante dosímetros físicos (de bolsillo, lapicera y TLD, etc.), compuestos por sustancias que se transforman en presencia de radiación, para estimar el valor de la exposición [4]. Por otra parte la dosimetría biológica consiste en la estimación de la dosis absorbida por una persona expuesta con base en un parámetro biológico cuantificable (frecuencia de aparición de las aberraciones), proporcional a la dosis de exposición [5].

1.2 Protección radiológica

Medidas de Protección: Hay organizaciones internacionales no gubernamentales encargadas de este tema como la ICRP, que desarrolla guías y manuales sobre protección radiológica, con el objetivo de proteger a las personas (pacientes y trabajadores) y al ambiente contra las radiaciones, tanto en casos normales como de emergencia. La responsabilidad de cumplir estas normas recae en el gobierno, el empleador y el trabajador, los cuales deben garantizar la seguridad del personal y las instalaciones, de modo que la exposición esté entre los límites permisibles. A continuación se dan algunos conceptos sobre el tema:

Prácticas: Con el fin de evitar daños a nivel celular de trabajadores, pacientes y el público en general expuestos a radiación, el OIEA, la OMS, la OIT, entre otras, recomiendan una serie de principios y requerimientos a tener en cuenta, como [2]:

Justificación: El uso de radiaciones ionizantes debe justificarse y estar compensado por un beneficio.

Optimización: Es minimizar al máximo el número de personas y la cantidad de exposición teniendo en cuenta los factores sociales y económicos, con cumplimiento estricto del principio **ALARA**: “*As Low Reasonably Achievable*”, es decir, tan bajo como sea razonablemente alcanzable [6].

Límites: En las prácticas con radiaciones ionizantes los valores de dosis equivalente deben ser menores al límite, excepto las correspondientes a uso médico. El objetivo no es acercarse a los valores límites, sino mantenerlos lo más bajo que sea razonable [7].

Existen medidas de protección radiológica para disminuir al máximo la exposición del personal, pero muchas de estas no son suficientes para atenuar toda la energía que se recibe, por ello es necesario tener en cuenta una serie de principios básicos que permiten disminuir razonablemente los límites de exposición [6]:

Distancia: Mantener la máxima separación entre la fuente y el trabajador

Tiempo: Se debe procurar el mínimo tiempo de exposición a la fuente de radiación

Blindaje: Es una de las medidas de radioprotección más importantes ya que se interpone entre la fuente y el operador con el fin de disminuir la dosis para alcanzar el límite; este depende del tipo de radiación y del Z.

1.3 Salud ocupacional de trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes

En salud ocupacional de trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes, tema de la ORP (“*Occupational Radiation Protection*”), el objetivo principal de la seguridad personal es eliminar o limitar al mínimo los efectos nocivos de la radiación ionizante (por radiofármacos y equipos de rayos-X), pero sin obstaculizar las actividades con las radiaciones, bajo la premisa de la relación costo/beneficio. La ICRP estipula los límites de dosis, como se muestra en la Tabla 2, que incluye los del público [8].

Tabla 1. Límites de dosis recomendadas para trabajadores y público ICRP-103

Tipo de limite	Ocupacional (mSv)	Publico (mSv)
Dosis efectiva	20 mSv/año periodos definidos de 5 años	1 mSv/año
Dosis equivalente anual:		
Cristalino	150	15
Piel	500	50
Manos y pies	500	---

Para disminuir los efectos de la radiación se utilizan implementos de seguridad como delantal plomado, chaleco, falda de plomo, protectores de tiroides y de gónadas, gafas, guantes protección de nariz y boca para materiales radiactivos aerotransportados, ventilación natural y artificial del lugar donde se encuentre la fuente (*Figura 2*), diseñados de tal forma que la

protección que brinde sea a la totalidad del órgano, y certificados con pruebas de resistencia a la radiación.



Figura 1. Implementos de protección personal: Tomada de: [9]

Cada gobierno, empresa y trabajador debe acatar y divulgar el buen uso de las medidas de protección radiológica teniendo en cuenta la reglamentación, simbología (publicados por la OIEA e ICRP) y políticas públicas sobre protección de cada país. Para Colombia el Ministerio de Minas y Energía mediante la Resolución N° 18-1434 del 5 de diciembre del 2002, establece el *Reglamento de Protección y Seguridad Radiológica*.

2. METODOLOGÍA

2.1. Selección de TOE para el estudio

Los donantes de sangre serán 40 personas voluntarias, de los cuales 20 son trabajadores de la salud en posible riesgo de exposición a radiaciones ionizantes y los demás corresponden a público en general como grupo control, a quienes se les indicará el objetivo principal de la investigación, los beneficios y posibles riesgos, por medio de un consentimiento informado el cual deberán aprobar.

2.2. Formato de encuesta

Con el fin de conocer antecedentes profesionales, hábitos e historia clínica se aplicará una encuesta adaptada del documento [2], que se le realizará a cada voluntario.

2.3. Toma de muestras de sangre periférica

Se utilizarán tubos al vacío con Liquemine y tapón de caucho, torniquete, algodón, tapabocas, guantes y alcohol antiséptico al 70%. A cada persona se le extraerán 4mL de sangre por venopunción.

2.4. Técnicas citogenéticas

Existen diferentes parámetros biológicos que sirven como indicador de los posibles daños que causa la radiación ionizante en el ADN; a continuación se indican las técnicas que permiten analizar estas alteraciones:

2.4.1. Aberraciones cromosómicas

Cultivo: Para cada muestra, se añadirán 4 mL de medio de cultivo MEN, 1mL de suero fetal de ternera, 0,8mL de sangre periférica y 0,1 mL de fitohemaglutinina P, todo se incubará por 69 horas (37°C). Posteriormente se adicionarán 0,1 mL de colchicina para interrumpir división celular en metafase, transcurridos 20 minutos a 37°C se centrifugarán a 1200 rpm (10 minutos) y se eliminará el sobrenadante. Con el fin de aislar las metafases, se agregará la solución hipotónica de KCl y se dejará en incubadora a 37°C durante 4 minutos, a continuación se lavará por triplicado con solución fijadora Carnoy, se centrifugarán durante 10 minutos a 1200 rpm y se eliminará el sobrenadante. Finalmente para el goteo, con una pipeta Pasteur se tomará el sedimento celular, con una pinza se sostendrá la lámina y se dispersará de 6-8 gotas de dicho sedimento, las láminas goteadas se colocarán sobre un mechero prendido para eliminar la humedad.

Coloración de láminas: La tinción de los cromosomas se realizará con una solución de Giemsa al 5%, ésta se adicionará sobre las láminas durante 5 minutos, posteriormente se lavarán con agua de la llave y se realizará el montaje para analizar las metafases en el microscopio [10].

Análisis de metafases: Se identificará en microscopio a bajo aumento las metafases con 46 cromosomas bien separados, a continuación, con mayor aumento se analizará el daño cromosómico representado por dicéntricos y sus correspondientes fragmentos. Para determinar si existe daño se analizarán 1000 metafases, se cuentan las lesiones y se interpolan en curvas dosis-respuesta.

Descripción y observación citogenética: Las lesiones encontradas se clasificarán como *cromosomas dicéntricos y en anillo, los fragmentos acéntricos*, no se tendrán en cuenta. Otras anomalías cromosómicas como *translocaciones e inversiones*, solo se contarán cuando la morfología del cromosoma es indicativa de este tipo de reordenamiento. En el caso de roturas de cromátidas y “gaps” se cuantificarán por separado.

2.4.2. Micronúcleos

El método de cultivo y tñido es similar al descrito anteriormente para obtener metafases, sin embargo las principales diferencias están en que se agregará citocalacina B (Cyt-B) a los cultivos después de 24 horas, el tiempo de cultivo se prolongará a 72 horas y el tratamiento con solución hipotónica, fijación y centrifugación variarán con el fin de conservar el citoplasma para identificar las células binucleadas. En el documento [5] se detallan particularidades de las anteriores técnicas.

2.4.3. Determinación de la dosis: como el estudio se va hacer por aberraciones y micronúcleos, para estimarla se comparará, la obtenida de la frecuencia de aparición de *aberraciones* en las curvas dosis-respuesta realizadas en investigaciones previas [11-13], que obedecen a un comportamiento lineal cuadrático ($Y= C+\alpha D +\beta D^2$), con las calculadas mediante la solución de la ecuación cuadrática:

$$D = \frac{-\alpha \mp \sqrt{\alpha^2 + 4\beta(Y-C)}}{2\beta} \quad (1)$$

Dónde,

D = Dosis

α = Coeficiente lineal

β = Coeficiente cuadrático

C= Control de frecuencia basal

Y= Frecuencia de dicéntricos por célula, Y_D o de micronúcleos por célula binucleada, Y_{MN}

Lo mismo que se propone para estimar la dosis con aberraciones, se hará con *micronúcleos*, pero se usará la curva dosis-respuesta recientemente establecida, y que se encuentra en un documento para publicación aceptado en el X Congreso Regional Latinoamericano IRPA de Protección y Seguridad Radiológica, Buenos Aires, 12 al 17 de abril 2015 [14,15].

3. REFERENCIAS

1. Montoya, M., et al. *Sistema de vigilancia epidemiológica para el factor de riesgo radiaciones ionizantes* (2000).
2. Sierra Cano, B. Y. *Evaluación del efecto genotóxico de la Radiación Ionizante en médicos ortopedistas expuestos laboralmente, en cuatro instituciones de salud en Bogotá, Colombia* (2011).
3. OIEA, *Findings and recommendations of the international conference on occupational radiation protection: protecting workers against exposure to ionizing radiation*. Vienna (2002)
4. Guerrero, C., Carbajal, C., Maldonado, A. *Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares al avance de la Ciencia y la Tecnología en México*, 2010.
5. OIEA., *Dosimetría citogenética: Aplicaciones en materia de preparación y respuesta a las emergencias radiológicas*, Viena Austria (2014).
6. Nuñez. M., *Protección Radiológica en Medicina Nuclear*, Escuela Universitaria de Tecnología en Medicina, Uruguay, pp. 1–14 (2008).
7. García Torres, L. *Magnitudes dosimétricas básicas*, Instituto de Ciencias Nucleares y Energías Alternativas, pp. 7–9 (1993).

8. ICRP. *Las recomendaciones 2007 de la Comisión Internacional de Protección Radiológica 103*. Sociedad Española de Protección Radiológica (2008).
9. Ovacilli, S., Gündoğdu D. E., *Personal Protective Equipment for Ionizing Radiation Protection in Health Sector*, Vienna: OIEA, p. 425-427 (2014).
10. Noval Lara V. E., Pineda Bolívar W. R., Crane Urueña C., Pabón Riaño V. M. “*Dosimetría citogenética curva dosis-respuesta para bajas dosis de rayos-X*,” Soc. Bras. Prot. Radiológica, (2013).
11. Crane C., Zamora H., Bermúdez A., Barreto H.G., Pardo C. E. “*Dosimetría citogenética*”, Nucleares, vol. 5, No.9-10, pp. 10-18, (1990).
12. Noval V. E., Pineda W. R., Crane C., Pabón/directores V. M., “*Introducción a la estandarización de curva dosis-respuesta de aberraciones cromosómicas estructurales en linfocitos producidas por rayos-X*”, Tesis grado, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia, (2010).
13. Noval V. E., Pineda W. R., Crane C., Pabón V. M., “*Dosimetría citogenética. Curva dosis-respuesta para bajas dosis de rayos-X*”, Memorias IX Latin American IRPA Regional Congress on Radiation Protection and Safety-IRPA 2013, Sociedade Brasileira de Proteção Radiológica – SBPR, Rio de Janeiro, Brazil, (2013).
14. Molina A. K., Díaz L.J., Hernández M.A., Pabón V.M., Crane C., Bermúdez J.A. *Evaluación por micronúcleos de daños en ADN con bajas dosis de rayos-X*. Aceptada para presentar en el X Congreso Regional Latinoamericano IRPA de Protección y Seguridad Radiológica, Buenos Aires, 12 al 17 de abril, 2015
15. Diaz, L. J., Hernández, M. A., Molina, A. K., Crane, C., Pabón, V. M., Bermudez, A. “*Preliminary Study of Standardization and Validation of Micronuclei Technique to Assess the DNA Damages Caused by the X-rays*”, *XIII International Conferences on Medical Physics, Radiobiology and Radiation Protection*, Zurich, Switzerland, 13-14 January (2015)