

## **Alteraciones cromosómicas en linfocitos humanos inducidas por rayos X.**

*Monika Bellorín-Fernández y Janice Fernández-D'Pool.*

Instituto de Medicina del Trabajo e Higiene Industrial, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

**Palabras clave:** Alteraciones cromosómicas, rayos X, linfocitos humanos, bandas G.

**Resumen.** Con el propósito de determinar y caracterizar alteraciones cromosómicas inducidas por rayos X en linfocitos humanos, se llevó a cabo un estudio de tipo experimental con autocontrol en 4 donantes sanos (2 masculinos y 2 femeninos). Se extrajo sangre venosa periférica, dividiéndose en 6 alícuotas, 5 de ellas fueron irradiadas a dosis de 0,5, 1, 2, 3 y 4 Gy empleando un acelerador lineal, se dejó una alícuota como control para cada donante. El análisis cromosómico se realizó mediante la técnica de Bandas G. Se observó que, a medida que aumentó la dosis de irradiación, se elevó el número de metafases anormales y la frecuencia de alteraciones cromosómicas. La mayoría de las alteraciones cromosómicas fueron de tipo estructural donde destacaron las traslocaciones, sitios frágiles y deleciones. Se obtuvo diferencia significativa entre los grupos expuestos y no expuestos a radiación con respecto a la dosis de irradiación y aparición de alteraciones cromosómicas ( $p < 0,05$ ). El cromosoma 1 estuvo principalmente involucrado en alteraciones cromosómicas estructurales, seguido por los cromosomas 3, 10, 6, 7 y 9. Los resultados presentados en este estudio, indican un aumento lineal de las alteraciones cromosómicas inducidas por exposición aguda a rayos X en función del incremento de la dosis de irradiación. Se concluye que el análisis citogenético puede ser considerado como una herramienta útil para el asesoramiento de la dosis absorbida de irradiación y sus efectos biológicos en el hombre.

**X-ray induced chromosomal alterations in human lymphocytes.**  
*Invest Clin 2002; 43(2): 157-171*

**Key words:** Chromosomal alterations, x-rays, human lymphocytes, G banding.

**Abstract.** With the aim of determine and characterize chromosomal alterations in human lymphocytes induced by x-rays, an experimental study was performed with auto-control in four healthy donors (two males and two females). Peripheral blood was drawn, and divided in six aliquots: five of them were irradiated with 0.5, 1, 2, 3 and 4 Gy using a linear accelerator and one

---

aliquot was used as control for each donor. The chromosomal analysis was carried out with the "G banding technique". It was observed that as the irradiation doses were raised, the abnormal metaphases and frequency of chromosomal alterations increased as well. The majority of chromosomal alterations were of the structural type, of which the most relevant ones were translocations, fragile sites and deletions. A significant difference was observed between the exposed and non-exposed groups with regard to the irradiation doses and the apparition of chromosomal alterations ( $p < 0.05$ ). Chromosome 1 was more frequently involved in structural chromosomal alterations, followed by chromosomes 3, 10, 6, 7 and 9. The results presented in this study indicate that chromosomal alterations induced by acute exposure to x-rays increase linearly once the irradiation doses are raised. Therefore, the cytogenetic analysis can be considered as a useful tool for the control of the absorbed radiation dose and its biological effects in men.

*Recibido: 09-07-2001. Aceptado: 26-06-2002.*

## INTRODUCCIÓN

Durante el presente siglo, el hombre ha sido sometido a un aumento en los niveles de radiaciones ionizantes provenientes de fuentes elaboradas por él mismo, conociéndose desde entonces los efectos dañinos de ellas. El uso extensivo de la radiación en medicina, industrias, energía nuclear y otros campos ha aumentado el interés de los investigadores por estudiar los daños producidas por las radiaciones, tanto inmediatas como a largo plazo (1-3).

Los efectos biológicos ocasionados por las radiaciones ionizantes sobre la materia viva son consecuencia de la transferencia de energía de las radiaciones a las moléculas constitutivas de las células. Por tanto, los efectos primarios de la radiación son de tipo biomolecular; los daños posteriores a nivel de las células, tejidos, órganos y la totalidad del organismo son consecuencia de las modificaciones moleculares producidas en el momento en que las células son irradiadas (2, 4).

Por muchos años se ha estudiado la inducción de alteraciones cromosómicas posterior a la exposición a radiaciones ionizantes. En consecuencia, es importante cono-

cer el nivel de exposición a radiación y la extensión del daño inmediatamente después de la exposición en tratamientos médicos o posterior a accidentes de irradiación como un medio para evaluar y asesorar las posibles consecuencias a la salud (5). Las aberraciones inestables (dicéntricas, fragmentos acéntricos, anillos céntricos) y las aberraciones estables (traslocaciones recíprocas y de otro tipo) son los dos principales tipos de alteraciones cromosómicas inducidas por irradiación de células en los estadios G0 o G1 del ciclo celular.

Los estudios de Muller, en 1927, establecieron que la interacción de las radiaciones ionizantes con el material genético, inducen un aumento importante en la tasa de mutación espontánea (2, 4).

De las alteraciones cromosómicas, algunas traslocaciones son el resultado de intercambios que se comportan como alteraciones estables y pueden pasar a través de sucesivos ciclos celulares. Esto es de particular importancia en la evaluación y el asesoramiento de daño genético celular, posterior a largos períodos de exposición a radiación o por exposición crónica acumulada, utilizándose así la frecuencia de traslocaciones para dosimetría retrospectiva

en humanos expuestos a radiaciones ionizantes (2, 6, 7).

Los linfocitos representan un buen modelo para estudiar los posibles efectos biológicos de las radiaciones ionizantes sobre el hombre por ser altamente radiosensibles. La investigación de las alteraciones cromosómicas en estas células, puede considerarse como un indicador biológico de utilidad para evaluar los efectos de las dosis bajas de las radiaciones (8).

Los dosímetros biológicos son útiles para el asesoramiento epidemiológico del riesgo de poblaciones expuestas a eventos nucleares catastróficos y como medio para validar la dosimetría física en trabajadores expuestos a radiación (9).

Bender y Gooch (10) sugirieron el uso de daño cromosómico en linfocitos humanos como una medida cuantitativa de exposición a radiación. Un pre requisito para una dosimetría biológica significativa es el análisis de la relación dosis-respuesta de alteraciones cromosómicas, establecida bajo condiciones *in vitro* de irradiación y cultivos estandarizados.

En Venezuela, existe actualmente una amplia utilización de las fuentes de radiaciones ionizantes en diferentes sectores: Industria, Medicina, Investigación y Agropecuario. En el sector industrial las aplicaciones más importantes comprenden el uso de fuentes radioactivas selladas para la determinación de espesores, niveles, densidades, ensayos no destructivos, perfilaje de pozos petroleros. En Medicina se encuentran tres subsectores: diagnóstico médico-odontológico, radioterapia y medicina nuclear. En los sectores Investigación y Agropecuario, existe la utilización de radiotrazadores en forma de moléculas marcadas (11).

A nivel nacional persiste una deficiencia en el control, inspección y vigilancia de la utilización de las fuentes de radiaciones ionizantes, así como carencia en la dota-

ción y empleo de dosímetros personales por parte de los empleadores y empleados, lo que hace necesario valerse de otro tipo de recursos tal como el análisis cromosómico, prueba que permite la detección eficiente y temprana de lesiones biológicas en los humanos, así como la estimación de la dosis de exposición a este tipo de radiación.

El empleo de material radioactivo cada vez más difundido tanto en medicina como en la industria, determina un aumento en el número de personas accidental y ocupacionalmente expuestas a las radiaciones ionizantes (4). Dados los efectos biológicos derivados de ellas, principalmente en la esfera genética, se llevó a cabo el presente estudio citogenético en linfocitos de sangre periférica de individuos sanos irradiada con rayos X a diferentes dosis, para identificar las posibles alteraciones cromosómicas y relacionarlas con la dosis de radiación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental con autocontrol, en 4 donantes sanos, dos del sexo masculino y dos del femenino, con un rango de edad de 32 a 34 años con promedio de 32,5 años. A cada uno de ellos se les extrajo en una única ocasión 12 ml de sangre venosa periférica en ayunas. La muestra fue dividida en alícuotas de 2 ml que fueron vertidas en 6 tubos plásticos que contenían 0,25 ml de heparina sódica como anticoagulante. Una de las alícuotas fue utilizada como control, las restantes fueron expuestas a 0,5, 1, 2, 3 y 4 Gy de rayos X, para lo cual se empleó un Acelerador Lineal 4 Mev, marca Varian, modelo Clinac 4, serie 31, a una tasa de dosis de 180c Gy/min. Posterior a la irradiación se practicaron técnicas citogenéticas para el análisis cromosómico, mediante el cultivo de linfocitos de sangre periférica según Yunis<sup>12</sup> y bandeado GTC con coloración de Wright. Las alteraciones cromosómicas fueron descritas

bajo el Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenética de 1995 (13).

De cada muestra fueron estudiadas en promedio 13.75 metafases con microscopio binocular marca Olympus.

Los resultados se procesaron y analizaron con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS), versión 6.12 para Windows. Fueron aplicadas medidas de tendencia central y dispersión, análisis de varianza (ANOVA) para expresar las variaciones totales con respecto a la dosis de irradiación, donantes y frecuencia de alteraciones cromosómicas; prueba de Tukey, la prueba t de Student, para realizar comparaciones pareadas entre los grupos, considerándose estadísticamente significativos los resultados con una  $p < 0,05$ . Así mismo, se realizaron pruebas de correlación de Pearson.

## RESULTADOS

Para el análisis cromosómico se estudiaron un total de 327 metafases, de las cuales 55 correspondieron al grupo no expuesto a radiaciones ionizantes (control) y 272 al grupo expuesto a las diferentes dosis de rayos X. Se estudiaron un promedio de 13.75 metafases, tanto para las del grupo control como para las sometidas a diferentes dosis de rayos X.

La Tabla I muestra el total de metafases estudiadas de acuerdo a la dosis de irradiación y la frecuencia de normales y anormales. Se observa que del total de 327 metafases estudiadas, 82 fueron anormales (25,08%) y 245 no presentaron ningún tipo de alteración (74,92%). Así mismo, se destaca que a medida que aumenta la dosis de irradiación, aumenta el número de metafases anormales, tanto de manera individual (por donante) como al agrupar los donantes; al aplicar ANOVA se encontraron diferencias significativas entre el número de metafases anormales y el aumento de la dosis de irradiación ( $p < 0,05$ ).

En las muestras que no estuvieron expuestas a rayos X (controles), se observó que de un total de 55 metafases estudiadas, 3 (5,45%) presentaron alteraciones cromosómicas, correspondiendo una a un control masculino, la cual presentó dos sitios frágiles, y dos, a un control femenino, cada una con un sitio frágil. En las que estuvieron expuestas a diferentes dosis de rayos X, se encontró que de las 272 metafases estudiadas 193 fueron normales (70,95%) y 79 anormales (29,04%) (Tabla I).

Cuando se analizaron las metafases alteradas en relación con el sexo, se observó que en las muestras correspondientes al sexo femenino hubo mayor número de metafases anormales, pero no se encontraron diferencias significativas con respecto al sexo masculino (Tabla I).

De las 82 metafases con alteraciones cromosómicas, 62 (75,6%) fueron portadoras únicamente de anomalías estructurales, 42 metafases (67,74%) presentaron un solo tipo de alteración cromosómica, y 20 (32,26%) presentaron más de un tipo de alteración cromosómica. Este último caso se observó con mayor frecuencia en las dosis de irradiación más elevadas. (Datos no mostrados)

La Tabla II presenta las alteraciones cromosómicas estructurales y numéricas en linfocitos humanos, según la dosis de irradiación. De 327 metafases estudiadas, 125 fueron alteraciones cromosómicas de tipo estructural, mientras que 29 alteraciones fueron de tipo numérica. Estas últimas pudieron ser observadas a partir de una dosis de irradiación de 1 Gy, existiendo diferencia significativa entre las medias de las alteraciones cromosómicas numéricas y la dosis de irradiación ( $p < 0,05$ ).

Las alteraciones numéricas estuvieron representadas principalmente por monosomías y cromosomas extras, generando de esta manera aneuploidias, se visualizó una sola tetraploidía; del total de células estu-

**TABLA I**  
METAFASES ESTUDIADAS EN LINFOCITOS HUMANOS SEGÚN DOSIS DE IRRADIACIÓN

Dosis de Irradiación (Gy)	Donantes	Metafasas Estudiadas	Metafasas Normales		Metafasas Alteradas*	
			N	%	N	%
0	Hombres	31	30	96,77%	1	3,23%
	Mujeres	24	22	91,67%	2	8,33%
	Total	55	52	94,55%	3	5,45%
0,5	Hombres	36	31	86,11%	5	13,89%
	Mujeres	24	24	100,00%	0	0,00%
	Total	60	55	91,67%	5	8,33%
1	Hombres	40	34	85,00%	6	15,00%
	Mujeres	26	22	84,62%	4	15,38%
	Total	66	56	84,85%	10	15,15%
2	Hombres	33	24	72,73%	9	27,27%
	Mujeres	24	14	58,33%	10	41,67%
	Total	57	38	66,67%	19	33,33%
3	Hombres	21	13	61,90%	8	38,10%
	Mujeres	22	11	50,00%	11	50,00%
	Total	43	24	55,81%	19	44,19%
4	Hombres	24	15	62,50%	9	37,50%
	Mujeres	22	5	22,73%	17	77,27%
	Total	46	20	43,48%	26	56,52%
<b>Total</b>		<b>327</b>	<b>245</b>	<b>74,92%</b>	<b>82</b>	<b>25,08%</b>

\*p < 0,05.

**TABLA II**  
ALTERACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES Y NUMÉRICAS EN LINFOCITOS HUMANOS SEGÚN DOSIS DE IRRADIACIÓN

Dosis de Irradiación (Gy)	Metafasas Estudiadas	Metafasas Normales	Metafasas Anormales	Alteraciones Estructurales	Alteraciones Numéricas*	Coexistencia de Alteraciones
0	55	52	3	4	0	0
0,5	60	55	5	5	0	0
1	66	56	10	9	2	2
2	57	38	19	24	2	0
3	43	24	19	33	12	7
4	46	20	26	50	13	9
<b>Total</b>	<b>327</b>	<b>245</b>	<b>82</b>	<b>125</b>	<b>29</b>	<b>18</b>

\* p < 0,05.

diadas, 18 células presentaron coexistencia de alteraciones numéricas y estructurales y solo dos presentaron exclusivamente alteraciones numéricas. (Datos no mostrados)

La Tabla III muestra las alteraciones cromosómicas estructurales según la dosis de irradiación. Del total de alteraciones estructurales (125), las traslocaciones presentaron una frecuencia de 51 (40,8%), seguido por los sitios frágiles con una frecuencia

de 31 (24,8%) y por las deleciones con frecuencia de 24 (19,2%). Las traslocaciones se observaron tanto en los donantes masculinos como femeninos; éstas comenzaron a aparecer a partir de dosis de irradiación de 0.5 Gy, y su frecuencia aumentó a medida que la dosis de irradiación se elevó.

Debido a que las alteraciones cromosómicas estructurales observadas con mayor frecuencia en el análisis citogenético fue-

**TABLA III**  
ALTERACIONES CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES EN LINFOCITOS HUMANOS

Dosis de Irradiación (Gy)	Donantes	Traslocación	Delección	Fragilidad	Anillo	Marcador
0	Hombres	0	0	2	0	0
	Mujeres	0	0	2	0	0
	Total	0	0	4	0	0
0,5	Hombres	1	0	4	0	0
	Mujeres	0	0	0	0	0
	Total	1	0	4	0	0
1	Hombres	2	1	2	0	1
	Mujeres	0	0	3	0	0
	Total	2	1	5	0	1
2	Hombres	4	1	4	1	1
	Mujeres	5	0	7	1	0
	Total	9 <sup>*a</sup>	1	11	2	1
3	Hombres	6	2	1	0	2
	Mujeres	9	3	4	2	4
	Total	15 <sup>*b</sup>	5	5	2	6
4	Hombres	7	3	0	5	0
	Mujeres	17	14	2	0	2
	Total	24	17	2	5	2
Total		51	24	31	9	10

<sup>\*a</sup> p < 0,05 diferencia entre traslocación y delección.

<sup>\*b</sup> p < 0,05 diferencia entre traslocación y fragilidad.

ron las traslocaciones, deleciones y sitios frágiles, se aplicó una prueba t para comparaciones pareadas, con la finalidad de obtener información sobre la existencia de diferencias reales entre ellas. Se encontró que a partir de una dosis de 3 Gy de irradiación hubo diferencia significativa entre las traslocaciones y sitios frágiles y, únicamente, con dosis de irradiación de 2 Gy hubo diferencia entre las traslocaciones y deleciones. ( $p < 0,05$ ) (Tabla III).

Las traslocaciones y deleciones aumentaron en frecuencia de manera significativa

a medida que aumenta la dosis de irradiación ( $p < 0,05$ ). En los anillos se observó la misma respuesta aunque no se encontró diferencia significativa. Esto no sucedió para los sitios frágiles y marcadores, a pesar de que estos últimos se observaron a partir de una dosis de irradiación de 1 Gy (Fig. 1).

En la Fig. 2 se observa la relación entre la dosis de irradiación y las diferentes alteraciones cromosómicas estructurales. Las traslocaciones, los anillos y las deleciones presentaron una asociación positiva con

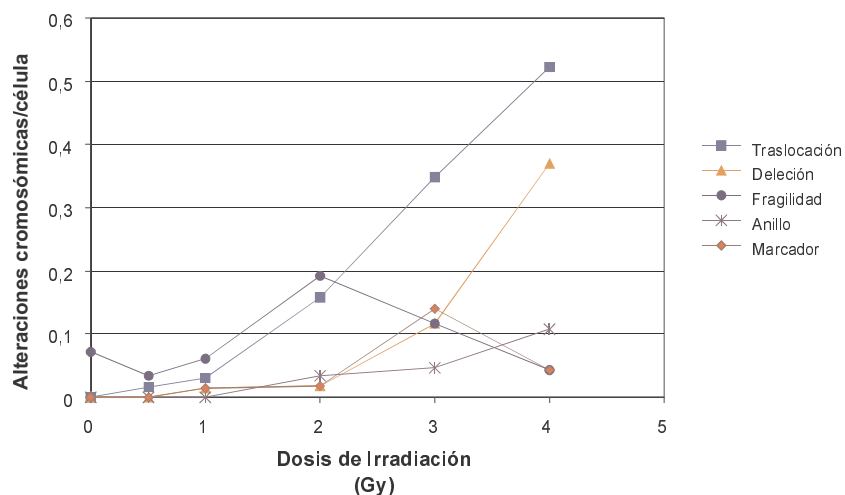


Fig. 1. Estudio cromosómico en muestras no expuestas y expuestas a rayos X.  $*p < 0,05$ .

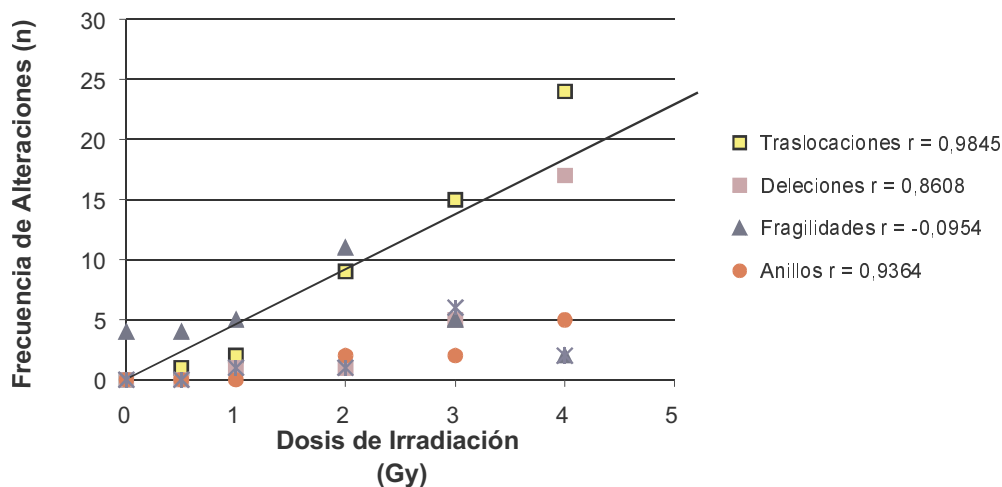


Fig. 2. Asociación entre tipo de alteraciones cromosómicas y dosis de irradiación.

respecto a la dosis de irradiación ( $r = 0,9845, 0,9364$  y  $0,860$ , respectivamente), mientras que las fragilidades no presentaron correlación ( $r = -0,0954$ ).

La Fig. 3 muestra que existe una correlación positiva entre la variable dosis de irradiación y número de alteraciones cromosómicas estructurales ( $r = 0,988$ ), así como el número de metafases anormales ( $r = 0,973$ ).

Al aplicar las pruebas de correlación entre los donantes del sexo masculino y femenino, se observó una correlación positiva entre la dosis de irradiación y la aparición de

alteraciones cromosómicas estructurales, así como de metafases anormales (Figs. 4 y 5).

La Tabla IV muestra la distribución de las alteraciones estructurales para cada cromosoma, observándose que el cromosoma 1 presentó el mayor número de alteraciones con un total de 21, seguido por el cromosoma 3 con 16 alteraciones estructurales, el 10 con 11 alteraciones y por los cromosomas 6, 7 y 9, cada uno con 10 alteraciones. De los cromosomas sexuales, sólo el X presentó una traslocación y una delección; en el grupo no expuesto únicamente

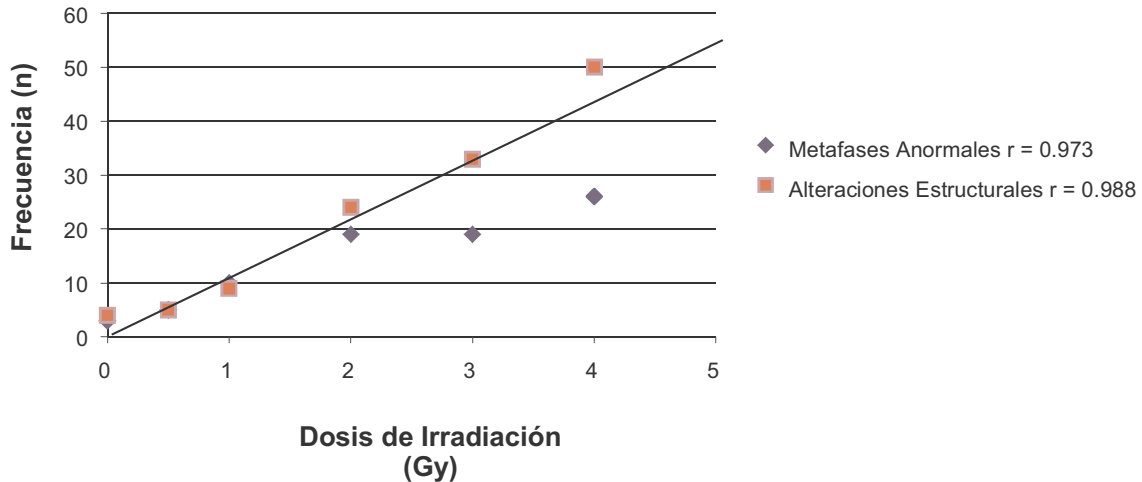


Fig. 3. Asociación entre metafases anormales y alteraciones estructurales y dosis de irradiación.

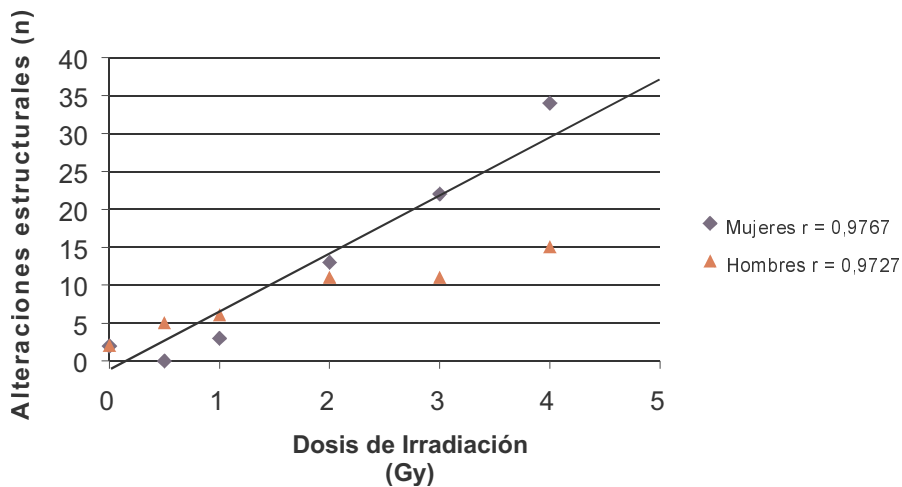


Fig. 4. Asociación entre alteraciones cromosómicas estructurales según sexo y dosis de irradiación.



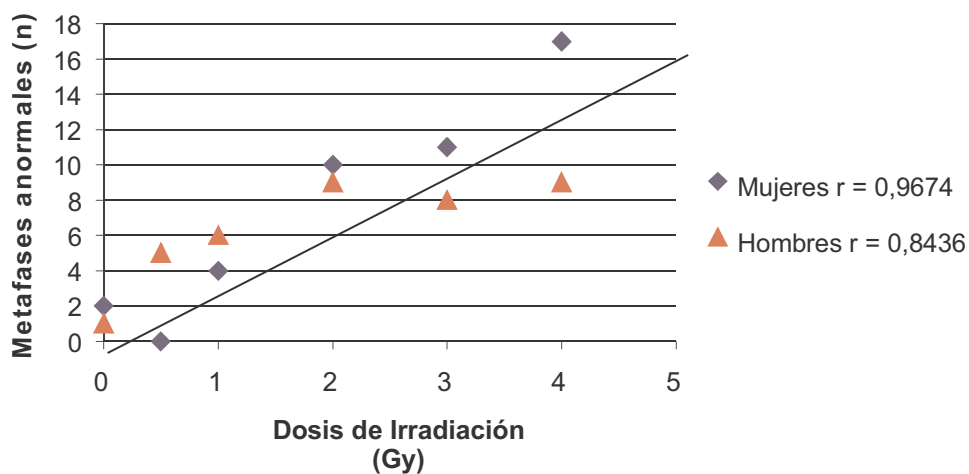


Fig. 5. Asociación entre metafases anormales según sexo y dosis de irradiación.

**TABLA IV**  
DISTRIBUCIÓN DE CROMOSOMAS AFECTADOS EN MUESTRAS EXPUESTAS Y NO EXPUESTAS A RAYOS X

Cromosoma	Traslocación	Delección	Fragilidad	Total
1	12	4	5	21
2	7	1	1	9
3	5	2	9	16
4	5	0	0	5
5	2	2	2	6
6	2	5	3	10
7	6	2	2	10
8	5	0	1	6
9	6	1	3	10
10	9	2	0	11
11	5	2	1	8
12	3	1	1	5
13	3	0	1	4
4	2	0	1	3
15	7	0	0	7
16	5	1	0	6
17	1	0	0	1
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0
X	1	1	0	2

se presentaron 4 sitios frágiles (dos correspondieron al cromosoma 1, uno al cromosoma 3 y otro al cromosoma 7). Debido a que varios de los cromosomas no presentaron alteraciones, fue difícil aplicar un análisis estadístico para realizar comparaciones, pero se evidenció que el cromosoma 1 fue el más afectado.

### DISCUSIÓN

Es bien conocido el aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas en trabajadores expuestos ocupacionalmente a radiaciones ionizantes, aun a dosis menores que el nivel de exposición permisible. La utilización creciente tanto en Medicina como en el sector industrial de material radioactivo conlleva a que el número de individuos accidental y ocupacionalmente expuestos a radiaciones ionizantes sea cada día mayor.

Los linfocitos son una buena fuente para estudiar los posibles efectos de las radiaciones ionizantes sobre el hombre; estas células son altamente radiosensibles. La investigación de las alteraciones cromosómicas en ellos, puede considerarse como un indicador biológico de utilidad para evaluar los efectos de las dosis de las radiaciones en individuos expuestos ocupacionalmente bien sea en forma aguda, como sería el caso de accidentes o en forma crónica.

Los sitios frágiles constituyen una de las anormalidades cromosómicas encontradas en individuos expuestos a radiaciones ionizantes. Ciertos sitios frágiles se expresan algunas veces espontáneamente en cromosomas preparados en cultivos estándar de linfocitos, pero casi todos requieren de alguna manipulación de las condiciones del cultivo para aumentar su expresión (14).

Existen factores que pueden hacer aparecer un sitio frágil, tales como pH aumentado, problemas hormonales, anticoncepti-

vos orales, y la cafeína, entre otros. El significado biológico de los sitios frágiles no es claro, pero se ha descrito una asociación entre los sitios frágiles y rupturas no al azar de rearrreglos encontrados en células cancerígenas (15).

Según Sutherland y Richards (16), los sitios frágiles se expresan con una frecuencia mayor del 2% de las metafases en un medio deficiente de folato o cuando se usa metotrexate como factor inductor. Craig-Holmes y col. (17) consideran una lesión como un sitio frágil cuando esta está presente en al menos dos diferentes individuos.

En el presente estudio, en el grupo control se encontraron 3 metafases anormales (5,45%) una en un donante masculino, con dos sitios frágiles y dos en un donante femenino cada una con un sitio frágil.

Se registraron 27 sitios frágiles en el grupo expuesto. No se evidenció diferencia significativa entre la aparición de este tipo de alteración cromosómica y el aumento de la dosis de irradiación. Estos resultados no pudieron ser comparados con otros estudios debido a que no se encontraron publicaciones relacionadas con este tipo de hallazgo, sin embargo pudiera ser explicado por un posible efecto de los rayos X.

Al analizar los datos se obtuvieron diferencias significativas entre la media de la frecuencia de las metafases anormales y el aumento de la dosis de irradiación. Similares resultados fueron presentados por Tucker y col. (7) quienes encontraron aumento del número de metafases anormales con el incremento de la dosis de irradiación, y reportaron que en una dosis de 4 Gy la frecuencia de metafases anormales fue mayor que la fracción teórica esperada.

En esta investigación no se encontró diferencia estadística significativa entre los dos grupos de donantes con respecto a la presencia de alteraciones cromosómicas y metafases anormales cuando se aplicó la

prueba ANOVA, a pesar de que los resultados parecieran sugerir que las donantes femeninas presentaron mayor número de alteraciones estructurales (Fig. 4). Esto concuerda con los reportes de Andrzej y Streffer (18) quienes estudiaron mediante la técnica FISH la frecuencia de aberraciones en los cromosomas 1 y 2 sin encontrar diferencias con respecto al sexo. Sin embargo, Tucker y col. (7) reportaron diferencias en la respuesta de dos donantes (uno masculino y otro femenino) con una dosis de 4 Gy de irradiación, pero no con las otras dosis, mediante técnica de bandeado G y de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) de cromosomas.

En la presente investigación se evidenció diferencia significativa entre los grupos no expuestos y expuestos a radiaciones ionizantes en relación a la aparición de alteraciones cromosómicas estructurales. Bajo condiciones *in vitro*, Schmickel (19) demostró un número significativamente alto de células con aberraciones cromosómicas en un grupo expuesto, aún con dosis de 0,05 Gy, con respecto al grupo control. Bauchinger y Gotz (20) y Finnon y col. (21) reportaron aumento de la frecuencia de alteraciones cromosómicas estructurales a medida que aumenta la dosis de irradiación *in vitro* en linfocitos humanos, difiriendo los valores entre el grupo control y el expuesto, resultados que coinciden con los encontrados en este estudio.

Al analizar los datos mediante ANOVA y la prueba de Tuckey se encontró diferencia significativa entre la frecuencia de alteraciones numéricas y la dosis de irradiación. Similares resultados fueron presentados por Villalobos y col. (4) en un estudio realizado en el personal del Departamento de Radiología de un Hospital de la ciudad de Maracaibo, donde, de un total de 5 individuos con alteraciones cromosómicas, 2 presentaron alteraciones numéricas.

Weissenborn y Streffer (22) consiguieron aumento de la pérdida de cromosomas a medida que ascendió la dosis de irradiación de células de un embrión de ratón durante la segunda mitosis, resultados que coinciden con el presente estudio.

De las alteraciones cromosómicas estructurales, en este estudio se reportaron traslocaciones, sitios frágiles, deleciones, anillos y marcadores. De ellas, las traslocaciones se presentaron con mayor frecuencia, iniciando su aparición con 0,5 Gy de irradiación en un donante del sexo masculino.

Tal como se observó en este estudio, Finnon y col. (21) encontraron que las traslocaciones fueron más numerosas que el resto de las alteraciones estructurales y que pudiera deberse al alto nivel de traslocaciones en el grupo control comparada con las otras alteraciones. Así mismo reportaron que el número de rearrreglos complejos, y el número de traslocaciones incrementan a medida que la dosis de irradiación aumenta, lo cual concuerda con los resultados de este trabajo.

Tucker y col. (8) observaron significativamente más traslocaciones que cromosomas dicéntricos, tanto al aplicar técnicas de bandeado G como con FISH. Teóricamente el número de traslocaciones y dicéntricos inducidos por radiación debe ser igual (23) y esto ha sido observado experimentalmente. En otro estudio, Tucker y col. (7) observaron diferencias entre las frecuencias de traslocaciones y dicéntricos, y reportaron que las traslocaciones incrementan de una manera dosis dependiente, lo cual coincide con los resultados de esta investigación.

Natarajan y col. (24) reportaron que la frecuencia de traslocaciones fue 1,5-2 veces más alta que la de dicéntricos inducidos por una dosis de irradiación dada y establecieron que esto depende de la dosis, el número de cromosomas en el genoma, número de

brazos de cromosomas y el número de rupturas inducidas.

Estudios *in vivo* claramente demuestran que los dicéntricos, como aberraciones inestables, decrecen progresivamente con el tiempo (25). Fernández y col. (6) los consideran como las aberraciones de elección, puesto que son fácilmente reconocibles y presentan una baja frecuencia en la población general. Sin embargo, se comportan como lesiones inestables, las cuales probablemente son letales en las sucesivas divisiones celulares, siendo gradualmente eliminadas de las células. Como consecuencia el registro de los dicéntricos es menos exitoso para estimar dosis de exposición a radiaciones ionizantes en las personas expuestas crónicamente.

En este estudio, las deleciones ocupan el tercer lugar dentro de las alteraciones cromosómicas estructurales; este tipo de alteración también aumentó a medida que lo hizo la dosis de irradiación, encontrándose diferencia significativa entre el número de ellas y la dosis de irradiación. Estos resultados contrastan con los de Bauchinger y Gotz (20) en un trabajo llevado a cabo en linfocitos humanos irradiados empleando bandeó G, donde se reportó un número relativamente bajo de deleciones. Los autores postularon que aun con el bandeó G fragmentos muy pequeños podrían no estar asociados con el cromosoma original.

No se encontró diferencia significativa entre la frecuencia de anillos y la dosis de irradiación, a pesar de que estos fueron observados a partir de 2 Gy de irradiación. Los anillos, al igual que los cromosomas dicéntricos, resultan de dos eventos de rupturas, mientras que las deleciones mayormente son debidas a un solo evento. Finnon y col. (21) registraron que el número de aberraciones complejas expresadas como dicéntricos, anillos y traslocaciones aumentaron desde 4% a una dosis de 0,25 Gy a 13% a 4 Gy. Finnon y col. (21) y Tucker y col. (8) re-

gistraron anillos con 0,25 Gy de irradiación, mientras que Fernández y col. (6) y Tucker y col. (7) los registraron a partir de 1 Gy, estos autores encontraron que la frecuencia de estas alteraciones aumentó con el ascenso de la dosis de irradiación.

Los marcadores son cromosomas muy pequeños que se observan ocasionalmente en cultivos cromosómicos, frecuentemente en estado de mosaico, usualmente son adicionales al complemento cromosómico normal y por lo tanto son llamados cromosomas supernumerarios. Este tipo de alteración cromosómica también fue observada en el presente estudio donde, al igual que en el caso de los anillos, no existió diferencia significativa entre su frecuencia y la dosis de irradiación. Estos se registraron a partir de dosis de 1 Gy; cabe destacar que Tucker y col. (8) reportaron marcadores a partir de 2 Gy de irradiación al utilizar bandeó G.

Se demostró al analizar los datos, que existe una asociación fuertemente positiva entre la dosis de irradiación y la frecuencia de alteraciones cromosómicas estructurales (Fig. 3). Este resultado es similar a los presentados por Finnon y col. (21) y Tucker y col. (7), donde cada tipo de aberración incrementa en una forma dosis dependiente como lo esperado. Sin embargo, en un estudio epidemiológico, Jha y Sharma (26) no encontraron correlación entre la frecuencia de aberración y la dosis absorbida estimada en trabajadores ocupacionalmente expuestos a rayos X.

En este estudio el cromosoma 1 se encontró mayormente involucrado en las alteraciones tipo traslocaciones, deleciones y sitios frágiles, seguido por los cromosomas 3, 10, 6, 7 y 9 respectivamente. Sin embargo, a pesar de que Andrzej y Streffer (18) refirieron que no existe un acuerdo de cuales cromosomas son particularmente sensibles o resistentes a radiaciones ionizantes, similares resultados han sido repor-

tados en varios estudios en los cuales, la mayoría de las aberraciones esperadas fueron encontradas en el cromosoma 1 (27-30) observando una frecuencia más elevada de traslocaciones que dicéntricas para el cromosoma 1, 4, 6, 7, 8 y X. Finnon y col. (21) encontraron que el cromosoma 5 tomó parte en intercambios cromosómicos más frecuentemente que lo esperado para su longitud. En un reciente estudio publicado donde se utilizaron linfocitos de un mismo donante, la frecuencia de aberraciones en el cromosoma 1 fue mucho más alta que en estudios previos (31).

Otros cromosomas encontrados frecuentemente involucrados en aberraciones son el cromosoma 3 (32), el 5 (20), el 7 (32), el 12, 15 y 17 (25). Seabright (33) encontró que todos los cromosomas participan en aberraciones inducidas por radiación proporcionalmente a su contenido de ADN.

El exceso de la participación del cromosoma 1 en traslocaciones estables reportado por Lucas y col. (29) por análisis de bandeado G, también los hallazgos del exceso de lesiones en el cromosoma 1, particularmente 1p por Bauchinger y Gotz (20) o por Barrios y col. (32) no fueron confirmados por los hallazgos de Lucas y col. (29) y Knehr y col. (30) cuando utilizaron la técnica FISH.

Knehr y col. (30) también encontraron una frecuencia más baja que la esperada de traslocaciones en el cromosoma 1 y 2 y concluyeron que los cromosomas con alto contenido de ADN están menos frecuentemente involucrados en la formación de aberraciones en contra de lo esperado de acuerdo a su tamaño de ADN. Estos mismos autores encontraron (31) que los cromosomas largos estaban menos frecuentemente involucrados en aberraciones cromosómicas. Esta conclusión contradice los resultados de Pandita y col. (34) y Dubos y col. (35) quienes encontraron aumento lineal en el nú-

mero de rupturas con el incremento del tamaño del cromosoma.

Finalmente, la exposición aguda a radiaciones ionizantes induce alteraciones cromosómicas en linfocitos humanos tanto de tipo estructural como numérico y su frecuencia aumenta con el incremento de la dosis de irradiación. Los linfocitos humanos de sangre periférica al ser usados en condiciones experimentales controladas pueden ser efectivamente empleados como biosímetro confiable para determinar dosis absorbidas de irradiación. Por lo tanto, el análisis citogenético puede ser considerado como una herramienta útil para la evaluación y el asesoramiento de los efectos biológicos de la radiación ionizante en el hombre y en su descendencia.

#### AGRADECIMIENTO

Al Instituto Nacional de Tumores, especialmente a la Dra. María Isabel Vargas y Freddy Rivero por su colaboración en la irradiación de las muestras. A la Unidad de Genética Médica de la Facultad de Medicina, LUZ, en especial a la Dra. Alicia Rojas de Atencio, Técnico Yenny Cañizales, Técnico Richard González y Griselda García por su aporte en el análisis citogenético de este trabajo. Al Ing. Alonso del Villar por su valiosa cooperación en el estudio estadístico.

#### REFERENCIAS

1. **Brooks S.** Ionizing Radiation In: Environmental Medicine. U.S.A. Mosby, 1995. p 450-467.
2. **Marti-Mercadal JA, Desoille H.** Medicina del Trabajo. 2da Edición. España. Editorial Massoni S.A; 1993. p. 362-390
3. **La Dou J.** Occupational and Environmental Medicine. 2da edición. U.S.A. Appleton & Lange; 1.997. p. 157-165
4. **Villalobos H, Valderrama N, Alvarez L.** Las aberraciones cromosómicas como indicador de la acción de las radiaciones ióni-

- zantes sobre el hombre. *Rev Acad Med Zulia* 1976; 22:56-79
5. **Hande MP, Boei WA, Granath F, Natarajan T.** Induction and persistence of cytogenetic damage in mouse splenocytes following whole-body X-irradiation analysed by fluorescence in situ hybridization. I. Dicentricies and translocations. *Int J Radiat Biol* 1996; 69:437-446.
  6. **Fernández L, Campos A, Goyanes V, Losada C, Veiras C, Edwards-A A.** X-ray biological dosimetry performed by selective painting of human chromosome 1 and 2. *Int J Radiat Biol* 1995; 67:295-302.
  7. **Tucker JD, Lee DA, Moore DH.** Validation of chromosome painting. II. A detailed analysis of aberrations following high doses of ionizing radiation in vitro. *Int J Radiat Biol* 1995; 67:19-28
  8. **Tucker JD, Ramsey MJ, Lee DA, Minkler JL.** Validation of chromosome painting as a biodosimeter in human peripheral lymphocytes following acute exposure to ionizing radiation in vitro. *Int J Radiat Biol* 1993; 64:27-37
  9. **Cologne JB, Pawel DJ, Preston DL.** Statistical issues in biological radiation dosimetry for risk assesment using stable chromosome aberrations. *Health Physic* 1998; 75:518-529.
  10. **Bender J, Gooch C.** Somatic chromosome aberrations induced by human whole-body irradiation: The "Recuplex" critically accident. *Radiat Res* 1976; 29:568-582
  11. **López A, Petrizzo J.** La protección radiológica en Venezuela: retrospectiva y situación actual. *Salud de los Trabajadores.* 1995; 3:59-67.
  12. **Yunis J.** New chromosome techniques in the study human neoplasia. *Hum Patol* 1981; 12 (6):540-549.
  13. **International System for Cytogenetic Nomenclature,** Mitelman F (ed), S Karger, Basel, 1.995
  14. **Sutherland GR, Ledbetter DH.** Report of the committee on cytogenetic markers. *Cyt Cell Genet* 1989; 51:452-458
  15. **Le Beau MM.** Chromosomal fragile sites and cancer specific rearrangements. *Blood.* 1.986; 67:849-858.
  16. **Sutherland G, Richards R.** The molecular basis of fragile sites in human chromosomes. *Current Opinion in Genetics and Development* 1995; 5:323-327.
  17. **Craig-Holmes AP, Strong LC, Goodcare A.** Variation in the expression of aphidicolin-induced fragile sites in human lymphocyte cultures. *Hum Genet* 1987; 76:134-137.
  18. **Andrzej W, Streffer C.** Comparison of radiation-induced aberration frecuencies in chromosomes 1 and 2 of two human donors. *Int J Radiat Biol* 1998; 74:573.
  19. **Schmickel R.** Chromosome aberrations in leukocytes exposed in vitro to diagnostic levels of x-rays. *Am J Hum Genet.* 1967; 19:1-11.
  20. **Bauchinger M, Gotz G.** Distribution of radiation induced lesions in human chromosomes and dose-effect relation analysed with G-banding. *Radiat Environ Biophys* 1979; 16:355-366.
  21. **Finnon P, Lloyd DC, Edwards A.** Fluorescence in situ hybridization detection of chromosomal aberrations in human lymphocytes applicability to biological dosimetry. *Int J Radiat Biol* 1995; 68: 429-435.
  22. **Weissenborn U, Streffer C.** Analysis of structural and numerical chromosomal anomalies at the first, second and third mitosis after irradiation of one-cell mouse embryos with x-rays of neutrons. *Int J Radiat Biol* 1988; 54:381-394.
  23. **Evans HJ.** Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. *Int Rev Cytol.* 1962; 13: 221-230
  24. **Natarajan BH, Carrano AV, Moore II, Ashworth LK.** The DNA\_based human karyotype. *Cytometry* 1984; 5:376-385
  25. **Buckton K, Hamilton G, Paton L, Langlands A.** Chormosome aberrations in irradiated ankylosing spondylitis patients. Mutagen-induced chromosome damage in man. Evans and Lloyd eds. Edinburgh University Press. 1978. p 142-150
  26. **Jha AN, Sharma T.** Enhanced frequency of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to diagnostic X-rays. *Mutat Res* 1991; 260: 343-348.
  27. **Lee CL, Kamra OP.** The pattern of radiation-induced transmissible aberra-

- tions in human cell culture. *Hum Genet* 1981; 57:380-384.
28. **Kano Y, Little JB.** Site-specific chromosomal rearrangements induced in human diploid cells by x-irradiation. *Cytogenet Cell Genet* 1986; 41:22-29.
  29. **Lucas JN, Awa AA, Straume T, Poggensee M.** Rapid translocation frequency analysis in human decades after exposure to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1992; 62:53-63.
  30. **Knehr S, Zitzelsberger H, Braselmann H, Bauchinger M.** Analysis for DNA-proportional distribution of radiation-induced chromosome aberrations in various triple combinations of human chromosomes using fluorescence in situ hybridization. *Int J Radiat Biol* 1994; 65:683-690.
  31. **Knehr S, Zitzelsberger H, Braselmann H.** Chromosome analysis by fluorescence in situ hybridization: further indications for a non-DNA - proportional involvement of single chromosomes in radiation induced structural aberrations. *Int J Radiat Biol* 1996; 70:385-392.
  32. **Barrios L, Miro R, Caballin M, Fuster C, Gueda F.** Cytogenetic effects of radiotherapy. Breakpoint distribution in induced chromosome aberrations. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 41:61-70.
  33. **Seabright M.** High resolution studies on the pattern of induced exchanges in the human karyotype. *Chromosome* 1973; 40:333-346.
  34. **Pandita TK, Gregoire V, Dhingra K, Hittelman W.** Effect of chromosome size on aberration levels caused by gamma radiation as detected by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet cell Genet* 1994; 67:94-101.
  35. **Dubos C, Pequingnot E, Dutrillaux B.** Localization of gamma-rays induced chromatid breaks using a three consecutive staining technique. *Mutat Res* 1978; 49: 127-131.