

KROMOSOMSKE ABERACIJE U OSOBA
PROFESIONALNO IZLOŽENIH
IONIZIRAJUĆEM ZRAČENJU

ĐURĐA HORVAT

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada JAZU, Zagreb

(Primljeno 21. VI 1974)

Ispitivani su kromosomi kulture limfocita po adaptiranoj Moorheadovoj tehnici. Uspoređeni su citogenetski nalazi osoba profesionalno izloženih ionizirajućem zračenju s nalazima ispitanika koji nisu nikad radili s izvorima zračenja, niti su u posljednjih šest mjeseci bili ozračivani u dijagnostičke svrhe. Rezultati su pokazali da su dominantni tipovi oštećenja eksponirane skupine bili lomovi kromosoma, acentrični ili bicentrični kromosomi, te poliploidije. S obzirom na kontrolnu skupinu, u eksponiranih osoba učestalost i tip kromosomskih promjena značajno se razlikuju.

U određenim stadijima intermitotskog ciklusa stanica ljudi, biljaka, životinja i mikroorganizama, unutar staničnih jezgra nalaze se kromosomi. Te intranuklearne strukture vrlo su osjetljive prema djelovanju ionizirajućeg zračenja, i doze manje od 10 rada mogu u njima uzrokovati vidljive lomove (1). Uz te vidljive promjene kromosoma nastaje i niz promjena na razini gena, koje nije moguće identificirati standardnim citogenetskim metodama. Upravo takve promjene ili mutacije kvalitativno mijenjaju ili potpuno inhibiraju djelovanje pojedinih gena ili skupina gena (2).

Godinama se nije pridavala veća važnost mutaciji u somatskim stanicama, prema onoj u germinalnim stanicama. Mutacija somatske stanice može rezultirati poremećenom funkcijom ili čak smrću te stanice. Kako u organizmu postoje milijuni stanica određenog tipa, mutacije ili oštećenja ne moraju se odraziti na fiziološkoj razini organizma, sve dok ne obuhvate veći postotak u tom tipu stanica. Međutim, sve više istraživača pretpostavlja da mutacije somatskih stanica mogu biti osnova za nastajanje kancerogenih i leukemičnih stanja. Eksperimentalni podaci za tu pretpostavku odnose se naravno na životinje (1).

Nasuprot tome, mutacije nastale u germinalnim stanicama mogu biti kobne za potomstvo. To se odnosi na mutacije koje nastaju u bilo kojem

stupnju razvoja jajeta, spermija, ili čak u ranim stadijima života — oplodnog jajeta. Također je nađeno da oko 25% svih spontano pobačenih fetusa i mrtvorodenčadi ima kromosomske defekte stanica (1). Kako se samo velika kromosomska oštećenja mogu otkriti citogenetskim metodom, moguće je, a i vjerojatno, da mnogo manjih mutacija izmakne opažanju, a njihove posljedice se često očituju u nizu hereditarnih bolesti.

Godinama je poznato da ionizirajuće zračenje uzrokuje kromosomske aberacije čijim se posljedicama pripisuju razni hereditarni, metabolički i strukturalni poremećaji.

Budući da je primjena ionizirajućeg zračenja u modernoj medicini i tehnici nezamjenjiva, osoblje koje je profesionalno u dnevnom dodiru i blizini izvora zračenja redovno je iz niza tehničkih razloga, ili same prirode posla, izloženo većim ili manjim dozama tog zračenja.

Da bi se dobio uvid o biološkim, odnosno vidljivim mutagenim efektima u osoba raznih profila profesionalno izloženih ionizirajućem zračenju, izvršena je analiza kariograma deset ispitanika, za koje su postojale i dozimetrijske procjene ekspozicije.

MATERIJAL I METODE

Grupa je obuhvaćala po dvije osobe rendgenskih tehničara, radiologa, ftiziologa i četiri osobe srednjeg medicinskog kadra, zaposlene u radiološkim odjelima. Nitko od izloženih ispitanika nije u posljednjih šest mjeseci uzimao lijekove koji bi eventualno mogli izazvati kromosomske promjene, niti je bio podvrgnut dijagnostičkim ili terapijskim dozama zračenja. U kontrolnoj skupini analizirano je deset osoba koje na svom radnom mjestu nisu nikada bile izložene niti ionizirajućem zračenju, niti djelovanju bilo kojeg kemijskog mutagenog agensa, a u posljednjih šest mjeseci bile su zdrave. Analizirani kromosomi dobiveni su metodom kratke kulture limfocita iz periferne krvi ispitanika.

Kultura limfocita rađena je po adaptiranoj Moorheadovoj tehnici (3). Heparinizirana, venska krv sedimentirana je 30 minuta na sobnoj temperaturi. Limfociti su kultivirani u F-10 mediju (4) uz dodatak 20% telećeg seruma i Phytohaemagglutinina 0,1 ml/10 ml suspenzije (Burroughs Wellcome). Inkubacija na 37° C trajala je 68 sati. Tri sata prije završetka procedure kulturama je dodan Colchicin 0,4 μ g/ml stanične suspenzije (Fluka AG). Hipotonički postupak vršen je 0,8%-tnim natrijevim citratom. Uzroci su fiksirani u metanolu i ledenoj octenoj kiselini 3 : 1 tijekom 30 minuta. Nakon te fiksacije stanice su uzastopno »isprane« dva do tri puta u istoj otopini fiksativa.

Na mikroskopska stakalca ohlađena do -20° C kapana je suspenzija fiksiranih stanica. Preparati su osušeni na zraku i bojadisani 20 minuta u otopini Giemse 1 : 5 u fosfatnom puferu pH 6,8.

U kontrolnoj skupini snimljeno je i analizirano 50 metafaza po ispitaniku. Ekspozirana grupa imala je izvjesnih varijacija na više, zavisno od nalaza pojedinog ispitanika. Mikrofotografije su snimljene na Leitz fotomikroskopu pri povećanju 100 \times 10 (ulje-imerzija).

REZULTATI

Analiza stanica kontrolne i eksponirane skupine bila je istovrsna. Najprije je izvršena numerička kontrola i određena kromosomska formula, a zatim su analizirane strukturalne promjene. Rezultati su prikazani na tablici 1. U kontrolnoj skupini analizirano je ukupno 500 metafaza. Dominantna aberacija bila je poliploidija, zastupljena sa 3%, te još nekoliko kromatidnih oštećenja.

Tablica 1.
Analiza stanica kontrolne i eksponirane skupine

Ispitanik	Tipovi aberacija							
Kontrola	Broj analiziranih stanica	Poliploidija	Dicentrični i prstenasti	Acentrični	Posebno dugi	Pulverizacija	Lomovi	Translokacija
1	50	2	0	0	0	0	0	0
2	50	3	1	0	0	0	0	0
3	50	0	0	0	0	0	1	0
4	50	0	0	0	0	0	0	0
5	50	3	0	0	0	0	0	0
6	50	0	0	0	0	0	1	0
7	50	2	0	0	0	0	0	0
8	50	4	0	0	0	0	0	0
9	50	0	0	0	0	0	0	0
10	50	1	0	0	0	0	0	0
Ukupno	500/100%	15/3%	1/0,2%	0/0%	0/0%		2/0,4%	0/0%
Izloženi								
1	100	3	4	2	3	2	30	3
2	50	1	2	0	0	0	0	0
3	100	16	4	0	4	1	24	4
4	50	2	0	0	0	0	2	0
5	50	1	2	0	1	0	0	0
6	50	2	0	1	2	1	2	0
7	50	0	0	0	0	0	0	0
8	50	0	0	1	0	1	0	0
9	50	2	0	0	2	0	2	0
10	50	1	0	1	0	1	0	0
Ukupno	600/100%	28/4,6%	12/2%	5/0,83%	12/2%	6/1%	60/10%	7/1,16%

U skupini osoba profesionalno izloženih ionizirajućem zračenju, povećan je broj kromosomskih i kromatidnih aberacija (sl. 1, 2, 3, 4). Uz poliploidiju koja je nešto veća u eksponiranoj skupini i ostali tipovi kromosomskih aberacija koje uopće nisu nađene u kontrolama, ovdje se javljaju u dosta velikom broju metafaza. Naročito velik postotak metafaza bio je s jednim ili više kromosomskih ili kromatidnih lomova. U više od 10% analiziranih stanica nađene su trajne promjene kromosoma — translokacije.

Od ukupno deset eksponiranih ispitanika dvoje su s naročito visokim postotkom aberantnih mitozna (ispitanici pod rednim brojem 1 i 3).



Sl. 1. Metafaza neozračivane osobe, $2n = 46$ kromosoma



Sl. 2. Tetraploidna stanica osobe profesionalno izložene ionizirajućem zračenju



Sl. 3. Stanica sa $2n = 46$ kromosoma od kojih je jedan dicentričan (ozračivana osoba)



Sl. 4. Stanica s kromatidnim lomovima (ozračivana osoba)

DISKUSIJA I ZAKLJUČAK

Dobiveni rezultati upućuju na to da u poredbi s kontrolnom skupinom u eksponiranih ispitanika postoji trend povećanja broja kromosomskih aberacija.

Istina, u toj su skupini dvoje eksponiranih s velikim brojem kromosomskih promjena, što je i razumljivo uz napomenu da su to osobe s najduljim radnim stažom na mjestu mogućeg ozračivanja. Osim toga, oba ispitanika radila su uz rendgenski aparat još i s drugim izvorima zračenja, npr. ^{226}Ra i ^{60}Co . Dok je kod ispitanika broj 1 dozimetrijska procjena ekspozicije iznosila oko 40 R, ispitanik broj 3 procijenjen je sa svega 10 R ukupno primljene doze. Kako se filmskom dozimetrijskom kontrolom ne može precizno odrediti ukupna primljena doza za cijelo tijelo, vjerojatno tu postoje stanovita odstupanja. Osim toga, u početku rada tih ispitanika još nije bilo uvedeno redovno dozimetrijsko praćenje, pa za razdoblje od nekoliko godina nema ni orijentacionih podataka o ekspoziciji.

Sličnim ili istim analizama osoba profesionalno eksponiranih ionizirajućem zračenju danas se već bavi niz institucija širom svijeta (5, 6, 7, 8, 9, 10) što upućuje na veliku važnost otkrivanja sekundarnih mutacija u čovjeka. Vrlo je teško uspoređivati dobivene rezultate s podacima drugih

autora, s obzirom na procijenjenu dozu zračenja, kao i provedeni radni staž. Gotovo ne postoje dva autora s apsolutno istim uvjetima kontroliranih skupina, no u svakom slučaju, bez obzira na uvjete, u svih ispitanika izloženih ionizirajućem zračenju, razni autori nalaze isti tip kromosomskih promjena. Postotna odstupanja govore, uz ostalo, o specifičnim uvjetima izloženosti. Kad se pak govori o tipu kromosomskih aberacija u ozračenih osoba, svi autori nalaze značajno povećan broj poliploidnih stanica, dicentričnih i prstenastih kromosoma, te izrazito visok postotak monokromatidnih i bikromatidnih lomova (5, 6, 9).

Kako je prosječni radni staž eksponiranih ispitanika iznosio u našem slučaju oko 12 godina, a prosječna procijenjena doza zračenja oko 10 R, izneseni podaci govore o kumulativnom mutagenom efektu zračenja, čije metaboličko-fiziološke manifestacije još ne zabrinjavaju.

Literatura

1. *Coggle, J. E.*: Biological effects of radiation, The Wykeham Science Series, London and Winchester, 1971, str. 81.
2. *Evans, H. J.*: Actions of radiations on chromosomes, u: »The Scientific Basis of Medicine«, Ann. Rew., 1967, str. 321.
3. *Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellmann, W. J., Battips, D. M., Hungerford, D. A.*: Exp. Cell. Res., 20 (1960) 613.
4. *Ham, R. G.*: Exp. Cell. Res., 29 (1963) 515.
5. *Horman, A., Sasaki, M., Ottoman, R. E., Veomett, R. C.*: Radiation Res., 23 (1964) 282.
6. *Brown, W. M. C., Buckton, K. E., McLean, A. S.*: Lancet, 2 (1965) 282.
7. *Goh Kong-oo*: Radiation Res., 35 (1968) 155.
8. *Pendić, B., Djordjević, O.*: Jugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta, 4 (1968) 231.
9. *Brandom, W. F., Saccomanno, G., Archer, V. E., Archer, P. G., Coors, M. E.*: Radiat. Res., 52 (1972) 204.
10. *Kilibarda, M., Marković, B., Panov, D.*: Stud. Biophys., 6 (1968) 179.
11. *Marković, B., Kilibarda, M., Panov, D.*: Ispitivanje hromozomnih aberacija u limfocitima periferne krvi radnika eksponiranih radonu i produktima raspada, Radovi VII jugoslavenskog simpozija »Zaštita od zračenja«, 1973, Kaštel Stari, str. 459.

Summary

CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN PERSONS OCCUPATIONALLY EXPOSED TO IONIZING RADIATION

Chromosome analysis of a lymphocyte culture was done using the Moorhead's technique. Cytogenetic findings in persons occupationally exposed to ionizing radiation were compared with those of subjects who have never handled radiation sources nor have been irradiated for diagnostic purposes in the last six months.

The results show that predominant types of lesions in the exposed group were chromosome breaks, accentric or bicentric chromosomes and polyploidies. Compared with the control group the rate and the type of chromosomal changes in exposed subjects were significantly different.

Institute for Medical Research and Occupational Health, Yugoslav Academy of Sciences and Arts, Zagreb

Received for publication June 21, 1974.