

## STUDY AWAL DETEKSI MIKRONUKLEI PADA LIMFOSIT PEKERJA RADIASI MEDIK

Yanti Lusiyanti<sup>1</sup>, Masnelly Lubis<sup>1</sup>, Suryadi<sup>1</sup>, Sri Sardini<sup>1</sup>, Viria AS<sup>1</sup>, Siti Nurhayati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Teknologi dan Keselamatan Metrologi Radiasi

Badan Tenaga Nuklir Indonesia

k\_lusiyanti@batan.go.id

### ABSTRAK

STUDY AWAL DETEKSI MIKRONUKLEI PADA LIMFOSIT PEKERJA RADIASI MEDIK Pekerja radiasi medis berpotensi terpapar radiasi pengion dosis rendah. Paparan radiasi pengion dapat menginduksi terbentuknya mikronuklei. Mikronukleus (MN) adalah nukleus kecil yang merupakan materi nukleus (DNA) terbentuk dari fragmen asentrik kromosom yang gagal bergabung dengan sel anak selama proses pembelahan sel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi perubahan struktur atau aberasi kromosom berdasarkan parameter mikronuklei pada pekerja radiasi medis yang terpapar radiasi pengion tingkat rendah. Sampel darah diambil dari 12 pekerja radiasi medis dengan rerata masa kerja  $16,41 \pm 9,94$  tahun dan kelompok kontrol. Pengamatan mikronuklei diperoleh pada sel binukleat dengan menggunakan metode uji pengeblokan sitokinesis (CBMN-*assay*). Hasil penelitian menunjukkan frekuensi MN pada pekerja radiasi medik relatif lebih tinggi dibanding kelompok kontrol, namun tidak berbeda signifikan ( $P = 0,67$ ). Hal ini menunjukkan bahwa paparan radiasi yang diterima pekerja tidak berdampak secara signifikan pada frekuensi mikronuklei.

*Kata Kunci : Aberasi kromosom, micronuclei, limfosit, pekerja radiasi.*

### ABSTRACT

*PRELIMINARY STUDY OF DETECTION OF MIKRONUKLEI IN LYMPHOCYTES OF MEDICAL RADIATION WORKERS* Medical radiation workers are potentially exposed to low ionizing radiation doses. Exposure to ionizing radiation can induce the formation of micronuclei. Micronucleus (MN) is a small nucleus that is a nuclear material (DNA) formed from chromosomal asentric fragments that fail to join the daughter cells during cell division. The aim of this study is to evaluate changes in chromosomal structures or chromosomal aberrations based on micronuclei parameters in medical radiation workers exposed to low level ionizing radiation. Blood samples were taken from 12 medical radiation workers with mean duration workers of  $16,41 \pm 9,94$  years old and control group. Observations of micronuclei were obtained in binucleic cells (BNC) using the cytokinesis block (CBMN) assay. The results showed that MN frequencies in medical radiation workers were relatively higher than the control group, but not significantly different ( $P = 0.67$ ). These results suggest that radiation exposure received by workers does not have a significant impact on micronuclear frequencies

*Key word: Chromosomal aberrations, micronuclei, human lymphocytes, cytogenetics, occupational Radiation.*

### PENDAHULUAN

Paparan radiasi yang diaplikasikan di setiap rumah sakit diantaranya untuk melakukan prosedur pencitraan diagnostik seperti sinar-X, CT-scan, pemindaian tulang, mamogram, MRI payudara, PET, dan pemeriksaan endoskopi [1]. Menurut (ICRP) batas penerimaan dosis yang direkomendasikan untuk dosis efektif adalah 20 mSv / tahun untuk aplikasi dalam paparan kerja dengan rata-rata selama 5 tahun (100 mSv), dengan ketentuan bahwa dosis efektif tidak boleh melebihi 50 mSv dalam satu tahun [2]. Radiasi pengion adalah gelombang elektromagnetik (foton) atau partikel energi yang akan menyebabkan proses ionisasi saat melewati material termasuk bahan biologis. Tingkat kerusakan yang ditimbulkan pada tubuh bergantung pada karakteristik jenis radiasi yang memiliki daya tembus dan berbagai tingkat

ionisasi. Interaksi radiasi dengan bahan biologis dimulai dengan interaksi fisik yaitu proses eksitasi / atau ionisasi, diikuti oleh interaksi fisikokimia dan respon biologis [3,4]. Pekerja radiasi berpotensi menerima paparan radiasi dengan dosis yang rendah. Dari hasil penelitian dilaporkan bahwa tingkat paparan di rumah sakit telah menurun dalam beberapa dekade terakhir dan menunjukkan di bawah batas yang diijinkan untuk pekerja radiasi dengan adanya peningkatan penggunaan prosedur seperti kardiologi intervensi dalam hal ini timbul beberapa kekhawatiran [5,6]. Paparan radiasi pengion dengan dosis tinggi secara nyata dapat menginduksi efek akut dan kronis pada manusia, sementara potensi risiko yang terkait dengan dosis radiasi rendah masih menjadi masalah perdebatan [7,8].

Radiasi pengion dapat menyebabkan berbagai bentuk kerusakan DNA, termasuk kemungkinan terjadinya perubahan struktur kromosom atau dikenal dengan aberasi kromosom dan mikronuklei (MN). Aberasi kromosom adalah indikator biologis yang diakibatkan oleh paparan radiasi pengion. Kelompok aberasi kromosom disentrik (kromosom dengan dua sentromer) merupakan indikator spesifik akibat paparan radiasi pengion, dan telah menjadi metode biologis yang paling sensitive untuk memperkirakan dosis yang diterima terutama pada kasus kedaruratan.[9]. Biomonitoring dengan berbasis biomarker sitogenetik seperti aberasi kromosom dan mikronuklei telah banyak digunakan dalam mengevaluasi efek genotoksik paparan radiasi.[4,10]. Uji MN ini juga digunakan sebagai dosimetri biologi yang tepat untuk mengevaluasi paparan radiasi pengion baik yang berasal dari pekerjaan, kesehatan, individu pasca terapi dan kerentanan kanker [11].

Pada penelitian terdahulu frekuensi MN yang relative tinggi telah diamati pada individu yang terpapar radiasi pengion. Frekuensi MN pada limfosit darah perifer manusia telah digunakan sebagai parameter biologis spesifik untuk mengevaluasi efek paparan radiasi lingkungan dan efek kesehatan jangka panjang dari radiasi pengion [12,13]. Dalam laporan lain [14] telah dilakukan pemeriksaan aberasi kromosom serta mikronuklei dari limfosit perifer pekerja rumah sakit, yang secara profesional terpapar radiasi pengion dibandingkan dengan orang yang tidak terpapar. Rasio frekuensi MN sekitar 3: 2 pada kelompok yang terpapar radiasi dibandingkan dengan kontrol.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi efek genotoksik radiasi berdasarkan pemeriksaan mikronuklei pada limfosit perifer manusia pada pekerja radiasi medis yang terpapar radiasi tingkat rendah.

## METODOLOGI

### Pengambilan Sampel

Sampel terdiri dari 12 pekerja radiasi medis yang berprofesi sebagai operator radiografer di rumah sakit dengan latar belakang masa kerja di lingkungan paparan radiasi rata-rata  $16,41 \pm 9,94$  tahun (dari 4 sampai 34 tahun) dan kelompok kontrol terdiri dari 12 individu dari pekerja administrasi. Persetujuan etisnya

berasal dari Balitbangkes dengan nomor LB02.01 / 5.2 / KE.

### Uji Sitokinesis Blok untuk pemeriksaan Mikronuklei (CBMN).

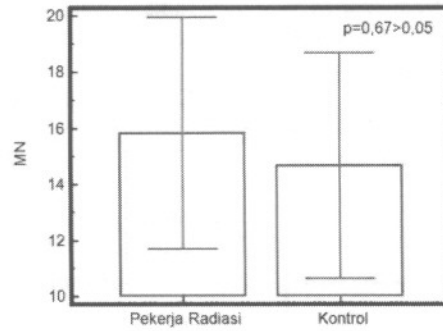
Uji CBMN- yang digunakan mengacu pada prosedur dari Fenech [10] dengan beberapa modifikasi. Kultur limfosit diinkubasi selama 72 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , cytochalasin-B (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) pada konsentrasi akhir  $3 \mu\text{g} / \text{mL}$  ditambahkan pada kultur untuk memblokir sitokinesis setelah inkubasi 44 jam. Kultur dihentikan pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$ , selanjutnya proses pemanenan dilakukan dengan sentrifugasi biakan pada 1000 rpm, dan melakukan penambahan dengan larutan hipotonik, Selanjutnya dilakukan penambahan larutan fiksative metanol: asam asetat (3: 1). Proses pembuatan preparat dilakukan dengan meneteskan limfosit pada slide kaca bersih dan diwarnai selama 10 menit dengan larutan Giemsa 4%. Pengamatan mikronuklei dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran  $40\times$  dan parameter MN, diverifikasi dengan pembesaran  $1000\times$ . Penghitungan dan pencatatan MN dilakukan dari masing-masing sampel. Frekuensi sel binucleat yang mengandung satu atau lebih MN dicatat dalam setiap 1000 sel binucleat, untuk menentukan sitotoksitas sesuai dengan kriteria penilaian CBMN pada manual IAEA [4].

### ANALISIS DATA.

Sebelum analisis data dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorove Smirnov test*. Dilakukan uji korelasi untuk mengetahui hubungan antara MN dengan masa kerja pada pekerja radiasi medik dan kontrol menggunakan *Medcalc Software* versi 9.102

### HASIL DAN PEMBAHASAN

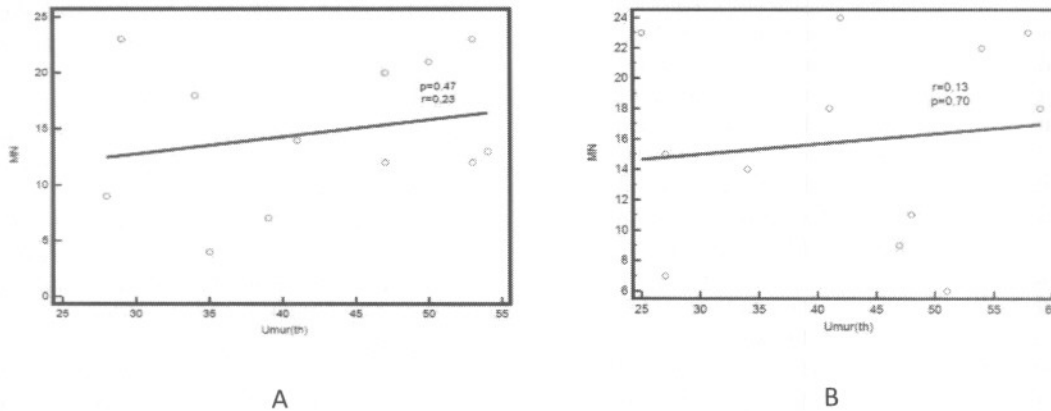
Dalam studi ini, pekerja medis yang secara fisik terkena radiasi pengion dipelajari secara sitogenetik untuk menilai kerusakan kromosom di dalam sel saat mikronuklei terbentuk dari fragmen asentrik atau keseluruhan kromosom yang tertinggal selama pembelahan sel [10]. Observasi frekuensi mikronukleus dilakukan di setiap 1000 sel binukleat per kultur. Distribusi frekuensi MN antara pekerja radiasi medis dibandingkan dengan subjek kontrol dijelaskan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rerata frekuensi MN pada pekerja radiasi medik dan kontrol

Distribusi frekuensi MN pada pekerja medis bervariasi antara individu pada kisaran 6-24 / 1000 BNC sedangkan pada pekerja non radiasi berkisar pada kisaran 6-22 / 1000 BNC. Mengacu pada buku manual IAEA [4] frekuensi MN pada individu normal berkisar antara 0-36/1000 BNC. Pada penelitian ini frekuensi rerata MN pada pekerja radiasi medis adalah  $(15,63 \pm 6,51)$  relatif lebih tinggi dari pada kontrol  $(14,67 \pm 6,33)$ . Hasil t Test menunjukkan bahwa meskipun frekuensi rerata MN pada pekerja radiasi medis sedikit lebih tinggi dari pada kontrol namun tidak ada perbedaan signifikan ( $P = 0,67$ ). Frekuensi MN pada pekerja radiasi medik bervariasi antar individu dengan kisaran 6-23 / 1000 BNC sedangkan pada kelompok pekerja non radiasi berkisar antara 4-

23 / 1000 BNC. frekuensi MN di kedua kelompok masih dalam kisaran normal. Frekuensi rerata MN pada pekerja radiasi medik sedikit lebih tinggi dari pada kontrol namun tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P = 0,67$ ). Temuan ini sesuai dengan penelitian lain yang melaporkan dari peneliti lain bahwa frekuensi MN pada pekerja radiasi relative lebih tinggi namun tidak signifikan, [15]. Menurut Bonassi et al 2003 [16] beberapa faktor yang mempengaruhi peningkatan frekuensi mikronuklei disamping status paparan radiasi antara lain, jenis kelamin, kebiasaan merokok dan umur. Dalam studi ini korelasi frekuensi mikronuklei dan umur yang disajikan pada Gambar 2.



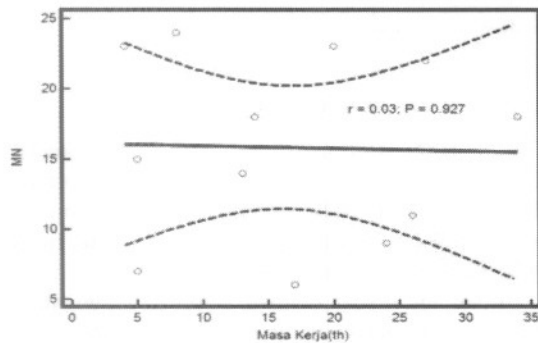
Gambar 2. Korelasi antara frekuensi MN dengan umur pada pekerja radiasi Medik (A) dan kontrol (B)

Pada gambar 2 terlihat bahwa sebaran antara frekuensi MN dengan umur baik pada pekerja radiasi medik maupun kontrol menunjukkan kecenderungan bahwa semakin tinggi usia frekuensi mikronuklei semakin tinggi kecuali pada kisaran umur 45 dan 50 pada pekerja radiasi medik. Hasil yang relatif sama juga dilaporkan pada penelitian Thierens yang

menyatakan terjadi kenaikan frekuensi mikronuklei pada sel binukleat sejalan dengan bertambahnya umur [17]. Menurut Hovhannisyanyan *et al.* (2012) secara umum frekuensi MN pada perempuan relative lebih tinggi dibanding laki-laki. Hal ini karena kromosom X pada perempuan dapat memicu pembentukan MN lebih banyak dibandingkan

pria. Namun dalam penelitian ini frekuensi MN pada kelompok pekerja radiasi maupun kontrol belum dikelompokkan berdasarkan jenis kelamin.

Berkaitan dengan lamanya masa kerja hubungan antara frekuensi mikronuklei dengan masa kerja disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Korelasi antara frekuensi MN dengan masa kerja pada pekerja radiasi medik

Dalam studi ini masa kerja tidak mempengaruhi tingkat frekuensi mikronuklei seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Terlihat bahwa tidak ditemukan adanya korelasi yang kuat antara frekuensi mikronuklei baik pada pekerja radiasi medik maupun pada kontrol. Hasil yang sama juga telah dilaporkan oleh peneliti lain bahwa frekuensi MN tidak terkait dengan tingkat paparan [1]. Durasi paparan dinyatakan sebagai lamanya pekerjaan, dan dalam beberapa kasus tidak terkait dengan paparan radiasi pengion secara terus menerus selama bertahun-tahun. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan melibatkan jumlah sampel yang banyak dan mengelompokkan pekerja berdasarkan jenis kelamin yang dapat merepresentasikan efek paparan radiasi selain pada tingkat sel juga pada tingkat molekular untuk mengevaluasi adanya kesusakan tingkat DNA yang diakibatkan oleh paparan radiasi dosis rendah pada para pekerja radiasi medik

## KESIMPULAN

Hasil studi menyimpulkan bahwa frekuensi MN k pada limfosit pekerja radiasi medik relative lebih tinggi dibanding non pekerja radiasi namun tidak ada perbedaan signifikan ( $P = 0,67$ ). Tidak ditemukan adanya korelasi yang kuat antara frekuensi MN dan masa kerja baik pada pekerja radiasi maupun kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa paparan

radiasi yang diterima pekerja tidak berdampak secara signifikan pada frekuensi mikronuklei.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Studi ini didukung oleh PTKMR-BATAN. Terima kasih atas dorongan dan dukungannya dari Kepala PTKMR, Susetyo Trijoko, M.App. dan semua relawan Rumah Sakit yang telah memberikan sampel darah.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Monica R. et al. *The micronucleus assay as a biological dosimeter in hospital workers exposed to low doses of ionizing radiation*. Mutation Research 747, (2012), 7–13.
2. ICRP.. *Avoidance of radiation injuries from medical interventional procedures*. ICRP Publication No. 85. Ann ICRP;30: (2000) 7–67.
3. Hall E, Graccia AJ. *Radiobiology for radiologist, 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;*. (2012) 13-33
4. Anonymous,. *Cytogenetic Dosimetry: Applications In Preparedness For And Response To Radiation Emergencies*, Austria:International Atomic Energy Agency (2011).
5. Mettler, et al., *Effective doses in radiology and diagnostic nuclear medicine: a catalog*, Radiology 248.p (2008) 254–263
6. Faulkner, A. *An estimate of the collective dose to the European population from cardiac X-ray procedures*, Br. J. Radiol. 81 (2008) 955–962.
7. Brenner, R. et al. , *Cancer risks attributable to low doses of ionizing radiation: assessing what we really know*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100. (2003) p.13761–13766
8. Feinendegen L.E, Brooks A.L, Morgan W.F.. *Biological consequences and health risks Of low-level exposure to ionizing radiation: commentary on the workshop*, Health Phys. 100 p. (2011) 247–259.
9. Bofetta P, Van der Hel O, Norppa H et al. *Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from central Europe*. Am J Epidemiol ; (2007) 165:36–43.
10. Fenech, M. . *Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death*, Mutat. Res. 600 p. (2006) 58
11. Thierens, H., VRAL, A., BARBE', M. et al. *A cytogenetic study of nuclear power plant*

- workers using the micronucleus-centromere assay. *Mutat. Res.*, (1999);445, 105–111
12. Neronova. E, Slozina, N., Nikiforov, A. *Chromosome alterations in cleanup workers sampled years after the Chernobyl accident*, *Radiat. Res.* 160. (2003) 46–51
  13. Kharchenko.T, et al. *Cytogenetic investigation of occupationally irradiated persons along time after exposure*, *Appl. Radiat. Isot.* 52 (2000).1161–1164.
  14. Cardoso RS, et al.. *Evaluation of chromosomal aberrations, micronuclei, and sister chromatid exchanges in hospital workers chronically exposed to ionizing radiation*. *Teratog Carcinog Muta-gen*, 21(6): (2001) 431-9.
  15. Maffei, Francesca et al.. "Micronuclei Frequencies in Hospital Workers Occupationally Exposed to Low Levels of Ionizing Radiation: Influence of Smoking Status and Other Factors." 17(5): (2002) 405–409
  16. Bonassi S, et.al *Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human Micro Nucleus project*. *Mutat Res*, 543(2): (2003)155–166.
  17. Hovhannisyan G, Aroutiounian R, Liehr T. *Chromosomal composition of micronuclei in human leukocytes exposed to mytomycin c*. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* Vol. 60(4): (2012) 316-322.

### Tanya Jawab

Penanya : EM. Wardhana

Pertanyaan :

- 1.a. Pekerja radiasi yang dianalisis itu sudah bekerja di bidang radiasi sudah berapa lama, apakah sama satu dan lainnya, ? kalau berbeda adakah pengaruhnya ?
- 1.b. Berapa paparan radiasi yang aman diterima oleh pekerja radiasi tersebut dan berapa lama bisa dianggap aman. ?

Jawaban :

- 1.a. Dalam penelitian ini, masa kerja para pekerja radiasi yang diambil sampel darahnya berkisar antara 4-34 tahun dengan rerata 16,41. Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak terlihat adanya pengaruh perbedaan antara masa kerja dan frekuensi MN.
- 1.b. Berdasarkan peraturan BAPETEN, paparan radiasi yang diijinkan untuk diterima pekerja radiasi dalam setahun adalah 20 mSv/tahun