

KAJIAN PAPARAN RADIASI RETROSPEKTIF DENGAN ABERASI KROMOSOM

Zubaidah Alatas

Pusat Teknologi Keselamatan Metrologi Radiasi - BATAN

ABSTRAK

KAJIAN PAPARAN RADIASI RETROSPEKTIF DENGAN ABERASI KROMOSOM. Pemantauan dosis radiasi secara biologi memberikan kontribusi penting terhadap perkiraan dosis kumulatif paparan radiasi dalam studi epidemiologi khususnya dalam kasus tanpa keberadaan dosimetri fisik. Biodosimeter dapat digunakan untuk memperkirakan paparan radiasi masa lalu dan telah diterapkan pada korban bom atom dan kecelakaan radiasi di Chernobyl. Aberasi kromosom merupakan indikator penting terhadap kerusakan DNA dan ketidakstabilan genom, dan sebagai biomarker utama untuk mengkaji dosis retrospektif pada individu terpapar radiasi pengion. Teknik *Chromosome painting Fluorescence in situ hybridization* (FISH) untuk deteksi adanya translokasi digunakan untuk mengukur frekuensi aberasi kromosom pada sel limfosit darah tepi manusia dan telah digunakan dalam dosimetri biologi retrospektif. Tulisan ini membahas penggunaan analisis aberasi kromosom khususnya translokasi dengan metode pengecatan FISH dalam pengkajian dosis retrospektif, termasuk keandalan aplikasi analisis ini dalam biodosimetri retrospektif.

Kata kunci: aberasi kromosom, radiasi, biodosimetri retrospektif, FISH

ABSTRACT

ASSESSMENT OF RETROSPECTIVE RADIATION EXPOSURE USING CHROMOSOME ABERRATION. Biological monitoring of radiation dose provides important contribution on the estimation of cumulative radiation exposure in epidemiological studies, especially in cases in which the physical dosimetry is lacking. Biodosimeter can be used to estimate past radiation exposure and has been applied to atomic- bomb survivors and Chernobyl clean-up workers. Chromosome aberrations are important biomarkers for retrospective dose assessment in individuals exposed to ionizing radiation. Chromosome painting Fluorescence in situ hybridization (FISH) technique for detecting translocations is used to measure the frequency of chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes and has been used in retrospective biological dosimetry. This article review the use of chromosome aberrations especially translocation analysis using FISH-painting method in retrospective dose assessment in human lymphocytes including the reliability of applying the analysis in retrospective biodosimetry.

Key words: chromosome aberration, radiation, retrospective biodosimetry, FISH

PENDAHULUAN

Pemantauan dosis radiasi dengan memanfaatkan biomarker yang dikenal sebagai dosimeter biologi dapat digunakan untuk memvalidasi pengukuran dosis

secara fisik dan untuk memperkirakan tingkat paparan dalam situasi tertentu tanpa keberadaan dosimeter fisik. Pemilihan dosimeter biologi yang akan digunakan bergantung pada tingkat

paparan, cara paparan (akut atau kronik), waktu paparan, dan jenis radiasi¹. Aberasi kromosom adalah parameter sitogenetik yang dapat diamati secara langsung terhadap keberadaan patahan dan perubahan struktur kromosom yang antara lain diinduksi oleh paparan radiasi pengion pada sel.

Metode sitogenetik untuk dosimetri biologi dapat mengevaluasi dosis secara individual dengan teknik pemeriksaan aberasi kromosom. Aberasi kromosom khususnya kromosom disentrik pada sel darah limfosit manusia telah digunakan sebagai dosimeter biologi dalam beberapa kasus kecelakaan radiasi. Aberasi disentrik bersifat tidak stabil yang menyebabkan aberasi ini dieliminasi dari darah tepi setelah paparan radiasi. Ini berarti bahwa frekuensi aberasi kromosom disentrik akan menurun bersama waktu setelah kecelakaan karena sel yang mengandung jenis aberasi ini mengalami kematian pada saat melakukan pembelahan sel. Analisis terhadap kromosom disentrik dapat dilakukan dengan baik jika (a) paparan radiasi kurang lebih merata pada seluruh tubuh, dan (b) sampel darah diambil segera setelah paparan².

Radiasi pengion dapat pula menginduksi aberasi kromosom translokasi dan inversi diklasifikasikan sebagai aberasi

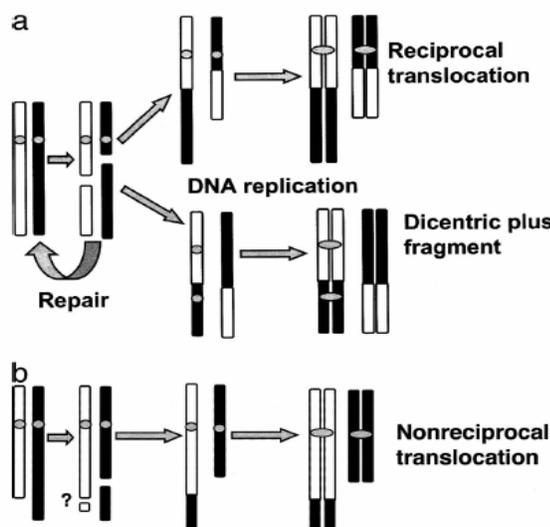
stabil yang diasumsikan tetap ada dalam tubuh untuk waktu yang relatif lama karena tidak mengalami kematian saat proses pembelahan sel. Translokasi dapat diidentifikasi dan dikuantifikasi dengan baik menggunakan *chromosome specific DNA libraries* dikombinasi dengan teknik *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH), yang dikenal pula sebagai *chromosome painting*³. Teknik ini mampu memvisualisasikan kromosom yang spesifik yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada kromatid.

Teknik FISH memungkinkan translokasi untuk dapat digunakan dalam memprediksi dosis radiasi yang diterima individu beberapa tahun lalu. Pada dosis rendah (0.5 Gy) frekuensi translokasi dapat digunakan untuk memperkirakan dosis radiasi jika jumlah sel yang dihitung cukup banyak⁴. Karena sel dengan aberasi kromosom ini tetap dapat melakukan pembelahan, maka aberasi translokasi dipilih untuk digunakan dalam biodosimetri retrospektif⁵. Tujuan kajian ini adalah untuk membahas tentang pemanfaatan biomarker aberasi kromosom khususnya translokasi dalam memprediksi dosis radiasi yang diterima individu akibat paparan radiasi pengion di masa lalu atau sebagai biodosimetri retrospektif.

Aberasi Kromosom

Aberasi kromosom merupakan kerusakan struktur kromosom berupa terjadinya patahan dan/atau pertukaran kromosom yang terjadi ketika sel berada dalam tahap G_1 pada siklus sel sebelum direplikasi pada tahap S. Aberasi kromosom yang diinduksi oleh radiasi pengion ini meliputi dilesi terminal dan interstitial, inversi, fragmen asentrik,

cincin sentrik dan asentrik, disentrik dan trisentrik (pertukaran asimetrik), dan translokasi resiprokal⁵. Beberapa jenis perubahan struktur kromosom yang paling relevan dengan dosimetri biologi yaitu kromosom translokasi dan disentrik, yang masing-masing dianggap sebagai aberasi kromosom simetris dan asimetris (Gambar 1)².



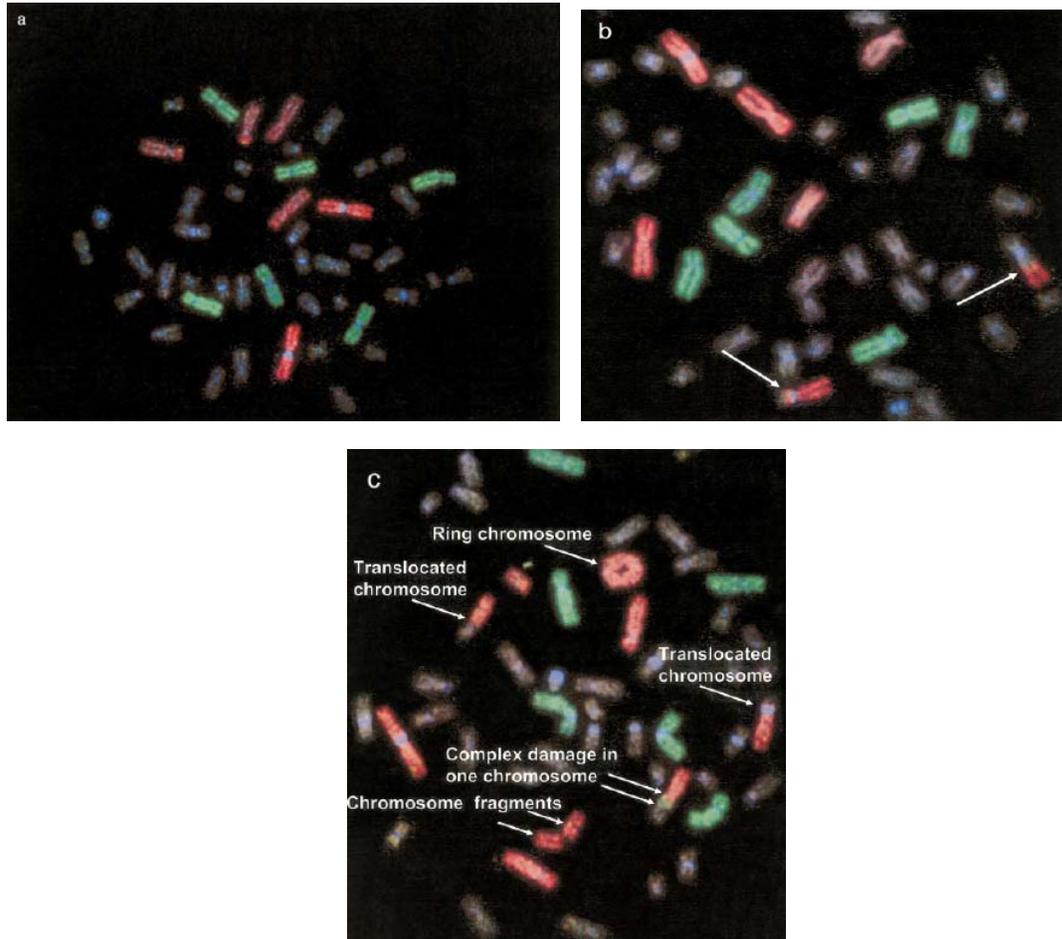
Gambar 1. Skematis pembentukan translokasi dan disentrik. (a) kromosom disentrik dan translokasi resiprokal. (b) translokasi non resiprokal².

Penggunaan analisis sitogenetik pada sel darah limfosit manusia sebagai dosimetri biologi telah dikuasai dengan baik, khususnya kromosom disentrik pada kasus paparan radiasi akut, dimana sampel darah diambil dalam waktu 24 jam - 30 hari⁶. Tetapi, analisis kromosom disentrik tidak cocok untuk diterapkan pada kasus paparan radiasi secara kronik dan paparan radiasi di masa lalu (retrospektif) karena

kromosom disentrik bersifat tidak stabil, artinya sel yang mengandung aberasi kromosom disentrik akan mengalami kematian⁷. Keterbatasan penggunaan aberasi kromosom disentrik ini dapat diatasi dengan analisis terhadap aberasi kromosom translokasi dengan teknik FISH. Dosimetri biologi dengan FISH melalui seleksi terhadap kromosom yang akan dianalisis karena kromosom tertentu

bersifat lebih sensitif terhadap aberasi pertukaran atau translokasi dibandingkan dengan kromosom lainnya⁸⁻¹⁰. Ini

menunjukkan bahwa ternyata distribusi patahan kromosom dalam genom manusia tidak terjadi secara random.



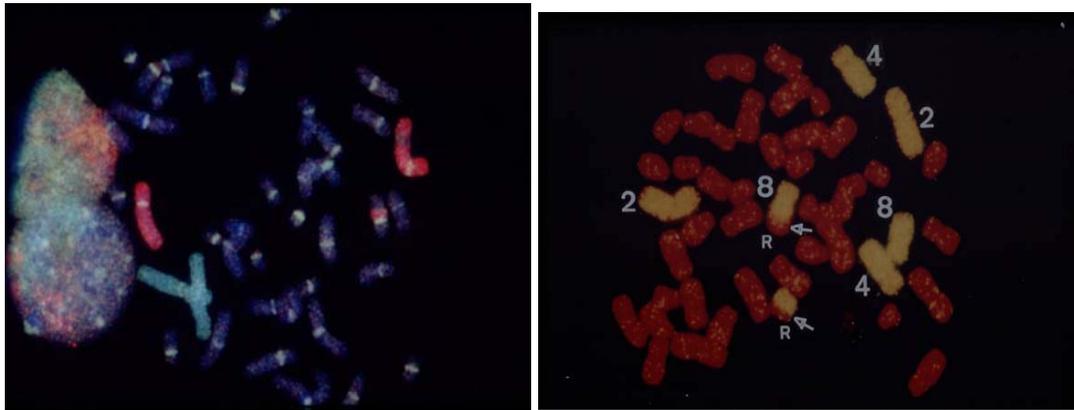
Gambar 2. (a) Sel dengan kromosom normal; (b). Sel dengan kromosom translokasi resiprokal; dan (c) sel dengan berbagai jenis aberasi kompleks. Kromosom pada sel darah limfosit manusia yang dicat dengan warna merah (22,07% dari genom) pada kromosom no. 1, 2, dan 4; dan dicat warna hijau (18,02% dari genom) pada kromosom nomor 3, 5, dan 6. Terdeteksi adanya 56% pertukaran sederhana².

Translokasi adalah jenis aberasi pertukaran fragmen atau materi antara kromosom yang sedemikian rupa sehingga setiap derivat kromosom mempunyai sebuah sentromer. Jenis pertukaran fragmen kromosom yang menghasilkan

sebuah kromosom dengan dua sentromer disebut dengan kromosom disentrik, dan menghasilkan sebuah fragmen asentrik (tanpa sentromer). Translokasi dan disentrik secara teori diinduksi pada frekuensi yang sama. Kenyataannya

perubahan struktur kromosom yang diinduksi radiasi adalah lebih kompleks karena tidak semua translokasi menunjukkan resiprokal. Translokasi non resiprokal diketahui dapat sebagai *one-way*

translocation dan *two-way translocation*. Translokasi dapat divisualisasi dengan baik menggunakan teknik *chromosome painting* seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.²



Gambar 3. Deteksi translokasi dan insersi dengan *single and multi-coloured FISH of whole chromosomes* (A) *triple coloured FISH* pada kromosom no.1 (hijau), no.4 (merah), dan semua kromosom (*pancentromeric probe*). (B) *single colour FISH* pada kromosom no.2, no.4 dan no.8. Tanda panah mengindikasikan translokasi resiprokal antara kromosom no.8 dan kromosom tidak dicat (R)⁷.

Translokasi dua arah (*two-way translocation*) dan satu arah (*one-way translocation*) harus dihitung secara terpisah. Cara ini untuk membedakan translokasi stabil dan tidak stabil, karena semua translokasi dua arah adalah stabil tetapi sebagian dari translokasi satu arah adalah tidak stabil. Implikasinya adalah bahwa translokasi satu arah dan dua arah sekarang harus dikombinasi dan bahwa limfosit manusia dapat digunakan untuk kalibrasi dengan tidak melibatkan sel dengan aberasi kromosom tidak stabil dalam penghitungan⁵.

FISH dengan *whole chromosome probes* (wpc) telah digunakan secara luas beberapa tahun terakhir ini untuk mengkaji kerusakan kromosom. Pencetakan kromosom meliputi hibridisasi probe, deteksi probe yang terhibridisasi, dan pewarnaan preparat untuk visualisasi kromosom yang tidak dicat. Pencetakan yang berhasil akan melabel kromosom secara merata dan tajam pada seluruh bagian lengan kromosom (Gambar 3). Teknik ini berpotensi untuk diaplikasikan dalam biodosimetri radiasi⁷.

Stabilitas Aberasi Kromosom Translokasi

Tidak seperti kromosom disentrik, frekuensi translokasi tidak mengalami penurunan sampai nilai nol tetapi mencapai kondisi *non zero* yang bergantung pada dosis. Kondisi ini memungkinkan translokasi dapat digunakan sebagai biodosimetri yang dilakukan beberapa tahun kemudian setelah paparan radiasi. Pengujian validitas telah dilakukan terhadap analisis translokasi dengan teknik *Chromosome painting* FISH untuk estimasi dosis serap dari paparan radiasi retrospektif¹¹⁻¹². Bukti terakhir menunjukkan bahwa stabilitas translokasi dipengaruhi oleh keberadaan kromosom translokasi dan kromosom disentrik pada sel yang sama dimana translokasi akan tereliminasi sebagai konsekuensi dari seleksi sel terhadap disentrik¹³.

Penurunan frekuensi translokasi dapat sebagai konsekuensi dari eliminasi sel yang mengandung kromosom translokasi dan mengalami kerusakan sangat parah. Selain itu, aberasi kromosom tidak stabil dan perubahan susunan yang asimetrik, atau eliminasi sel dengan perubahan susunan materi genetik dapat mengarah pada konsekuensi yang parah dikarenakan perubahan pada ekspresi dari sejumlah gen spesifik. Kompleksitas

aberasi pada sel limfosit yang diirradiasi dapat juga memberikan kontribusi terhadap penurunan frekuensi translokasi sepanjang waktu¹⁴.

Sepuluh tahun kemudian setelah paparan radiasi, terdapat sejumlah sel tertentu yang membawa aberasi ini cenderung tereliminasi. Dengan membandingkan dosis yang diperkirakan pada saat kecelakaan dengan dosis yang diperkirakan setelah 10 tahun, dapat disimpulkan bahwa untuk paparan radiasi dosis rendah (0,5 Gy) analisis translokasi dengan FISH nampaknya valid dengan mempertimbangkan perbedaan radiosensitivitas antara individu. Studi ini menekankan perlunya studi dengan pertimbangan yang lebih rinci terkait dengan persistensi kromosom translokasi sepanjang waktu, sebagai fungsi dari dosis radiasi, dan pengaruh faktor endogenous dan eksogenous yang menentukan variabilitas antar individu dalam memberikan respon terhadap radiasi. Dengan demikian faktor koreksi yang tepat dapat diaplikasikan untuk memperkirakan dosis serap retrospektif dengan analisis translokasi menggunakan metode pengecatan FISH¹⁴.

Beberapa studi terhadap persistensi berbagai jenis translokasi menunjukkan bahwa translokasi resiprokal mempunyai

probabilitas lebih besar untuk tetap bertahan terhadap mekanisme pembelahan sel dibandingkan dengan translokasi non resiprokal^{13,15,16}. Beberapa translokasi non resiprokal yang mempunyai probabilitas lebih besar bersifat letal². Sel dengan pertukaran yang kompleks didefinisikan sebagai tiga atau lebih patahan pada dua atau lebih kromosom.

Informasi tentang persistensi kromosom translokasi dalam tubuh terutama diperoleh dari korban beberapa kasus kecelakaan radiasi. Sebuah studi pada korban kecelakaan di Estonia yang dilakukan 4 tahun setelah kecelakaan menunjukkan penurunan jumlah translokasi mencapai sekitar 70% dari jumlah awal. Penurunan umumnya lebih lambat terjadi pada translokasi dua arah dibandingkan dengan semua translokasi. Jumlah translokasi pada sel stabil yang didefinisikan sebagai sel tanpa disentrik, asentrik, atau cincin sentrik, pada 2 tahun pertama adalah sama dengan jumlah pada beberapa waktu kemudian. Ini dapat dimengerti karena beberapa sel tidak stabil telah hilang bersama dengan waktu. Oleh karena itu, penurunan awal jumlah translokasi terutama disebabkan, jika tidak semuanya, oleh hilangnya sel tak stabil. Penerapan teknik sitogenetik pada kecelakaan yang mungkin akan terjadi di

masa yang akan datang, jika harus mengikutserakan pemeriksaan terhadap kromosom translokasi pada sel stabil, khususnya pada beberapa tahun pertama, dengan demikian pengamatannya dapat dikonfirmasi kelak⁵.

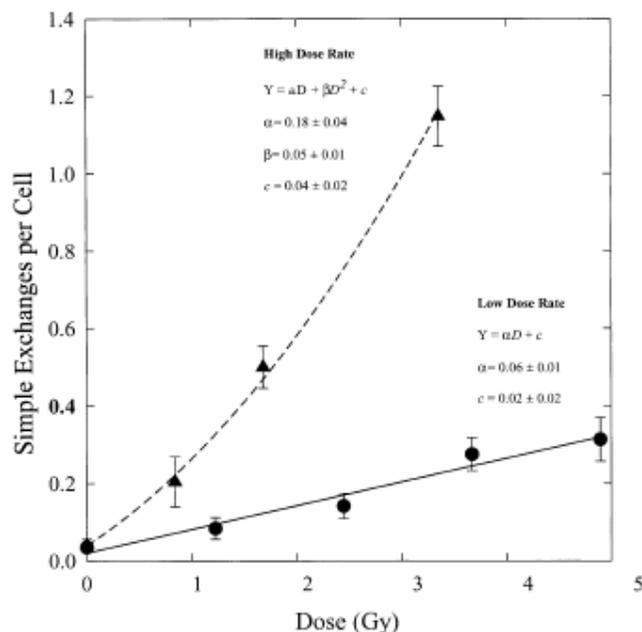
Sejumlah studi didisain untuk meneliti kelayakan uji translokasi dengan teknik FISH untuk dosimetri retrospektif pada (1) populasi tanpa dosimetri fisik dan biologi, (2) populasi dengan perkiraan dosimetri fisik dan biologi yang telah diketahui, dan (3) populasi dengan perkiraan dosimetri biologi yang telah diketahui dengan menggunakan analisis disentrik secara konvensional segera setelah paparan. Data dari grup terakhir dipertimbangkan sebagai analisis yang paling dapat diandalkan untuk membandingkan dengan frekuensi translokasi yang dapat menunjukkan kestabilan translokasi.

Kajian Dosis Radiasi Retrospektif dengan Fish

Ketika analisis sitogenetik dilakukan beberapa tahun kemudian setelah terpapar radiasi, faktor lain seperti usia dan kebiasaan merokok adalah yang paling penting dan nyata dalam mengintervensi data biodosimeter radiasi. Induksi aberasi stabil ditunjukkan menjadi lebih efisien pada individu muda.

Dilakukan analisis terhadap frekuensi translokasi pada 42 orang sehat yang berusia 21 – 73 tahun. Frekuensi translokasi lebih tinggi dijumpai pada usia yang lebih tua, terutama di atas 40 tahun. Mempertimbangkan bahwa frekuensi di antara individu normal adalah 0 - 3 translokasi per 1000 sel¹⁴. Seseorang dengan usia 30 tahun akan mempunyai latar sekitar 4 - 5 translokasi per 1000 sel ekuivalen genom. Jika dengan dosis

seumur hidup 0,5 Gy, maka hasil tambahan 7 atau 8 per 1000 sel ekuivalen genom secara nyata lebih besar. Pada seorang berusia 60 tahun dengan tingkat kontrol sekitar 10 per 1000 sel ekuivalen genom. Karena efisiensi deteksi translokasi dari kebanyakan kombinasi probe yang digunakan adalah 30 - 35%, maka 1000 sel ekuivalen genom berhubungan dengan sekitar 3000 sel metafase yang dihitung⁵.



Gambar 4. Kurva standar kalibrasi aberasi kromosom translokasi sederhana per sel sebagai fungsi dosis radiasi gamma (Gy) pada laju dosis yang berbeda¹⁷.

Pembuatan Kurva Standar Kalibrasi

Umumnya kurva standar respon dosis yang menggambarkan hubungan antara frekuensi aberasi kromosom dengan dosis radiasi sesuai dengan persamaan $Y =$

$c + \alpha D + \beta D^2$, dimana Y adalah jumlah aberasi kromosom, c adalah frekuensi latar, α and β adalah koefisien pembentukan aberasi, dan D adalah dosis serap (Gambar 4)¹⁷. Dengan radiasi *Linear*

Energy Transfer (LET) rendah (sinar x dan gamma), frekuensi disentrik dan translokasi meningkat dengan pola linear-kuadratik terhadap dosis, sementara dengan radiasi LET tinggi (neutron dan alpha) frekuensi disentrik dan translokasi linier terhadap dosis^{18,19}.

Sebagian besar kurva kalibrasi yang telah dipublikasikan menggunakan sel darah limfosit yang diirradiasi secara *in vitro*. Tetapi terdapat masalah dalam menghitung sel dengan jumlah besar untuk paparan radiasi dosis rendah sehingga cukup memadai untuk memperoleh perkiraan faktor kalibrasi linier yang baik. Sebuah laboratorium telah mengusulkan bahwa awalnya jumlah disentrik dan translokasi yang diinduksi radiasi adalah hampir sama. Koefisien linier untuk disentrik setelah irradiasi dengan sinar gamma ⁶⁰Co adalah ~ 15-20 per 1000 sel per Gy²⁰, yang berarti bahwa sebuah nilai yang sama harus diaplikasikan untuk translokasi. Untuk mengkalibrasi translokasi secara *in vitro*, diperlukan penghilangan sel tidak stabil. Pendekatan yang dilakukan untuk tidak melibatkan sel tidak stabil dalam penghitungan adalah mengidentifikasi sel tak stabil sebagai sel yang mengandung kromosom disentrik, asentrik, atau cincin sentrik. Studi persistensi menghasilkan sebuah koefisien

linier untuk sinar gamma adalah 33 ± 10 per 1000 sel ekuivalen genom per Gy⁵.

Pada prakteknya, kalibrasi untuk dosimetri retrospektif tidak dibutuhkan untuk dosis tinggi akut karena gejala simptom klinik yang muncul akan memastikan bahwa sebuah kecelakaan radiasi dengan dosis tinggi telah dapat dikenali pada awal kejadian kecelakaan, sehingga teknik disentrik dapat digunakan. Dosimetri retrospektif akan digunakan terutama untuk dosis tinggi yang protraksi atau dosis rendah yang tanpa ada gejala simptom klinik yang segera muncul. Oleh karena itu, istilah linier pada kurva dosis respon adalah penting. Faktor koefisien untuk translokasi, paling tidak untuk keperluan praktis, telah diketahui dengan baik. Nilai untuk radiasi gamma ⁶⁰Co adalah ~ 15 per 1000 sel ekuivalen genom per Gy. Ketidakpastian keseluruhan pada nilai ini adalah sekitar 30%. Untuk foton energi yang lebih rendah, nilainya ~ 30 per 1000 sel ekuivalen genom per Gy⁵.

Kalibrasi *in vivo* memungkinkan jika terdapat populasi manusia dengan dosis radiasi yang diterima diketahui dengan baik. Dari suatu populasi yang memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian, diketahui bahwa nilai rerata koefisien linier disentrik $11,1 \pm 1,9$ per

1000 sel ekivalen genom per Gy²¹ dan 28 ± 15 per 1000 sel ekivalen genom per Gy²².

Tingkat Kontrol / Latar Translokasi

Pada tahun 1999 jumlah translokasi pada orang yang tidak terpapar radiasi, kecuali radiasi latar normal dan faktor usia, telah diperoleh dengan kisaran 1 - 20 translokasi per 1000 sel ekivalen genom untuk usia 20 -80 tahun^{23,24}. Dalam rangka untuk mengukur tingkat kontrol yang lebih akurat dan untuk identifikasi masyarakat dengan jumlah translokasi yang tinggi, data dari laboratorium berbeda dikombinasi dengan menggunakan rumus Lucas untuk mengkoreksi jumlah translokasi terhadap keseluruhan genom^{25,26}.

Pengukuran jumlah translokasi pada setiap individu dapat diterima jika penghitungan dilakukan pada < 300 sel ekivalen genom. Ini adalah sekitar 1000 atau lebih sel metafase jika pengecatan dilakukan pada 3 pasang kromosom yang besar. Untuk tujuan dosimetri retrospektif, tingkat kontrol translokasi diasumsikan bergantung hanya pada usia dan variasinya dari 2 sampai 15 translokasi per 1000 sel ekuivalen genom masing2 untuk usia 20-80 tahun⁵. Tingkat kontrol translokasi sekarang telah diketahui dengan lebih baik. Diketahui jumlah translokasi mulai dari 0 pada neonatal sampai sekitar 15 per 1000

sel ekivalen genom pada usia > 80 tahun. Hubungan antara frekuensi translokasi dengan usia menunjukkan rerata kemiringan linier sekitar 1,7 per 10.000 sel per tahun. Diketahui bahwa jumlah translokasi yang banyak dijumpai pada masyarakat yang tinggal dalam rumah dengan tingkat radon yang sangat tinggi²⁷.

Frekuensi translokasi spontan lebih besar 3-6 kali dari disentrik. Untuk mengkaji paparan radiasi dosis rendah di masa lampau, sangat penting untuk memperoleh data yang cukup dari populasi kontrol yang tidak pernah terpapar radiasi. Data yang ada menunjukkan adanya beberapa faktor seperti usia, kebiasaan merokok dan/atau terpajan agen fisik dan kimia secara berlebihan akibat kerja atau lingkungan, yang mungkin mempengaruhi frekuensi translokasi spontan antar populasi. Faktor usia sepertinya yang paling berpengaruh nyata, khususnya pada rentang usia > 40 tahun yang terbukti menunjukkan frekuensi translokasi lebih tinggi²⁸.

Pemilihan Kromosom untuk Dicat

Pertimbangan utama dalam aplikasi biodosimetri menggunakan uji sitogenetik adalah deteksi aberasi sebanyak mungkin yang ada dalam genom. Ini berarti pengecatan dilakukan pada sebanyak mungkin kromosom dengan sebanyak

warna yang dapat divisualisasikan. Semakin banyak kromosom yang dicat, semakin besar kepastian identifikasi aberasi secara lengkap. Ini khususnya penting jika pertukaran yang kompleks yang menjadi perhatian, seperti dalam studi yang melibatkan radiasi LET tinggi, atau dosis tinggi LET rendah. Untuk radiasi dosis rendah LET rendah, paparan kronik LET rendah, atau bahkan ketika dosis total yang relatif tinggi, mungkin cukup jika pengecatan hanya dilakukan pada beberapa kromosom dengan satu warna. Umumnya para peneliti memilih untuk melakukan pengecatan pada sejumlah kecil kromosom yang besar dibandingkan dengan pengecatan pada sejumlah besar kromosom yang kecil karena akan memudahkan proses hibridisasi dan analisis mikroskopik².

Sensitivitas kromosom terhadap radiasi ternyata berbeda satu sama lain dan bagian tertentu dari kromosom mungkin lebih sensitif terhadap mekanisme pertukaran kromosom^{29,30}. Dengan demikian pemilihan kromosom untuk analisis dengan teknik *chromosome painting* FISH sangat perlu untuk diperhatikan. Diketahui bahwa lokasi patahan pada kromosom tidak terjadi secara random pada kromosom 1, 2, dan 4 pada pekerja pembersih dalam kasus

kecelakaan Chernobyl dan kelompok individu sehat yang tidak terpajan⁸. Dilaporkan pula bahwa pada kromosom 1 dan 4 menunjukkan lebih banyak patahan terjadi pada bagian tangan lengan p dan q, sementara patahan dijumpai lebih merata sepanjang kromosom 2¹⁰.

Dua sistem nomenklatur komplem-tari telah dikembangkan untuk mengatasi kompleksitas yang ada, yaitu *S & S system*³¹ dan *PAINT (protocol for Aberartin Identification Nomenclature Terminology)*³². Lebih jauh lagi, uji *multi-colour fluorescence in situ hybridization* (M-FISH) telah dikembangkan untuk memvisualisasi semua kromosom manusia dalam 24 warna yang berbeda. Uji ini berdasarkan pada penggunaan simultan kombinasi dan rasio pelabelan yang disebut *COmbined Binary RAtio labelling* (COBRA)¹⁹.

Biodosimetri Retrospektif

Pengecatan seluruh kromosom untuk dosimetri biologi radiasi telah diaplikasikan terhadap sejumlah populasi terpajan radiasi. Diantaranya adalah korban bom atom Hiroshima dan Nagasaki³³, Chernobyl³⁴, pekerja di Sellafield British Nuclear Fuels³⁵, populasi di Mayak/Techa River³⁶, Semipalatinsk³⁷, Goiania³⁸, dan grup yang terpajan akibat kerja³⁹.

Biodosimetri Retrospektif pada Populasi Tanpa Dosimetri Personal

Pada kasus kecelakaan radiasi di Chernobyl, perkiraan dosis radiasi retrospektif dengan pengukuran frekuensi aberasi kromosom ditentukan pada 15 pekerja yang terpapar radiasi dan semua diberi tindakan medik terhadap tahap lanjut dari sindroma radiasi kutanius yang diderita. Studi ini dilakukan dari awal tahun 1991 sampai 1994. Pada tahun 1991, perkiraan dosis dilakukan dengan mengukur frekuensi kromosom disentrik, cincin, dan translokasi. Perkiraan dosis individual adalah 1,1 - 5,8 Gy pada 12 dari 15 individu, and 3 dari mereka tidak menunjukkan kenaikan frekuensi aberasi. Selama periode waktu tiga tahun, pengukuran frekuensi translokasi dilakukan pada pekerja yang sama. Frekuensi translokasi pada 11 dari 12 individu tersebut tetap konstan selama rentang waktu September 1991 - Juli 1994. Studi ini menunjukkan bahwa translokasi dapat tetap konstan selama 5 tahun setelah paparan dan pada tingkat dosis yang berbeda⁴⁰.

Biodosimetri Retrospektif pada Populasi dengan Dosimetri Personal Segera Setelah Kecelakaan

Dilakukan studi pada 75 pekerja di Mayak yang memakai dosimeter fisik dan

menerima paparan radiasi pada tahun 1948 – 1963. Diperoleh nilai dosis eksternal kumulatif antara 0,02 - 9,91 Sv dan kandungan plutonium antara 0,26 -18,5 kBq. Hasil pemeriksaan pada pekerja berusia 35-40 tahun setelah paparan radiasi secara protrakasi pada kromosom nomor 1, 4 dan 12 dengan *whole chromosome probe* dan *pancentromeric DNA probe* menunjukkan bahwa frekuensi translokasi lebih besar pada pekerja dari kelompok kontrol. Jika dikaitkan dengan pekerjaan yang dilakukannya, umumnya kisaran frekuensi translokasi lebih rendah dari yang diharapkan berdasarkan catatan dosis personal dan kurva kalibrasi⁴¹.

Pada korban bom atom Hiroshima menunjukkan korelasi yang baik antara dosimetri *electron spin resonance* dengan dosimetri sitogenetik menggunakan frekuensi translokasi dari sel limfosit 40 korban yang tinggal pada jarak sekitar 2 km dari hipocenter, dan paling tidak berusia 10 tahun pada saat terjadi ledakan bom atom⁴².

Biodosimetri Retrospektif Pada Korban Kecelakaan Radiasi Dengan Dosis Awal Yang Diketahui

Dilakukan studi pada beberapa korban kecelakaan radiasi di Goiania (Brazil) yang terpapar sumber radioterapi ¹³⁷Cs. Segera setelah kecelakaan, lebih dari

129 sampel darah dari individu yang terpapar dianalisis untuk mengetahui frekuensi disentrik dan cincin dalam sel limfosit. Hasil menunjukkan bahwa 29 individu yang dianalisis, menerima dosis sekitar 0,3 – 5,9 Gy. Pada sebagian dari korban dilakukan pemeriksaan lanjutan terhadap frekuensi disentrik selama beberapa tahun kemudian. Sedangkan pemeriksaan translokasi dengan FISH dimulai 5 tahun setelah kecelakaan sebagai dosimetri radiasi retrospektif⁴³. Frekuensi translokasi (pada sekitar 80% *whole human genome*) yang diperoleh dibandingkan dengan frekuensi awal kromosom disentrik dari korban yang sama untuk mengetahui ketepatan perkiraan dosis yang dilakukan.

Frekuensi translokasi yang diamati beberapa tahun setelah kecelakaan (dari tahun 1992) pada dosis 1 Gy adalah dua atau tiga kali lebih rendah dari jumlah kromosom disentrik awal (tahun 1987) pada korban yang sama. Untuk tingkat paparan yang diperkirakan < 0,9 Gy dijumpai perbedaan yang kecil antara frekuensi translokasi dan frekuensi disentrik awal. Persistensi sel limfosit yang mengandung translokasi, tingkat translokasi yang tidak proporsional dengan ukuran kromosom, dan variasi antar individu berpotensi mengurangi ketepatan

perkiraan dosis. Hal ini serupa dengan studi kasus Chernobyl yang menunjukkan tidak ada penurunan pada frekuensi translokasi dibandingkan dalam periode waktu 5 - 8 tahun setelah kecelakaan⁴⁰.

Pada kasus kecelakaan di Estonia tahun 1994, analisis sitogenetik dilakukan pada bulan ke 1, 2, 6, 10, 12, 17, 22, dan 24 setelah kecelakaan pada 5 individu yang terpapar. Tingkat paparan diperkirakan antara 1 - 3 Gy. Pada studi lanjutan sampai dua tahun, translokasi resiprokal tetap ada pada ke 5 individu yang terpapar, dan hanya pada individu yang menunjukkan penurunan nyata pada jumlah translokasi terminal (*one-way*). Frekuensi disentrik menurun pasca irradiasi, dan tereduksi pada semua subjek paling tidak sampai 50% dari frekuensi awal yang dianalisis pada 12 bulan setelah kecelakaan⁴⁴. Studi ini menunjukkan bahwa translokasi dapat bertahan bersama waktu. Kestabilan untuk waktu yang lama bergantung pada salah satu faktor yang penting yaitu dosis paparan. Pada tingkat dosis >3Gy terdapat penurunan frekuensi translokasi bersama dengan waktu⁴.

PENUTUP

Dosis radiasi yang diterima dari paparan radiasi latar tinggi, daerah terkontaminasi, pemeriksaan diagnostik

yang berlebihan, akibat kerja, dan tindakan radioterapi memberikan kontribusi lebih terhadap pembentukan kromosom translokasi. Analisis kromosom translokasi dengan teknik FISH dapat memperkirakan dosis kumulatif rerata sepanjang hidup secara objektif dan cepat. Secara keseluruhan, kelebihan *chromosome painting* ini melebihi kekurangannya, dan pengecatan nampaknya tetap sebagai metode pilihan sebagai biosimetri radiasi yang dibutuhkan untuk populasi di masa akan datang. Pemantapan sebuah set frekuensi latar translokasi dari seratusan atau ribuan individu yang mewakili tingkat sosial, kultur, etnik, dan distribusi usia dari masyarakat kita harus menjadi prioritas pada studi berikutnya.

Berdasarkan hasil studi pada para pekerja radiasi di Sellafield dan korban bom atom, ditunjukkan bahwa paparan kronik menimbulkan sekitar 6 kali lebih sedikit aberasi kromosom per unit dosis dibandingkan dengan paparan akut. Ini membuktikan adanya akumulasi kromosom translokasi dalam kondisi paparan kronik akibat kerja dan kestabilan kromosom ini berlangsung selama beberapa dekade. Peningkatan nyata frekuensi translokasi sebagai konsekuensi dari paparan radiasi terutama sangat

dipengaruhi oleh dua faktor utama yaitu usia dan merokok.

Manfaat FISH untuk analisis translokasi telah memberikan kontribusi penting terhadap pemahaman kita mengenai risiko jangka panjang paparan radiasi pengion. Meningkatkan jumlah sel yang dihitung dalam analisis aberasi kromosom ini memungkinkan untuk dapat melakukan pendeteksian terhadap aberasi kromosom akibat paparan radiasi dosis yang lebih rendah dan meningkatkan pemanfaatan biosimetri yang lebih berarti pada dosis rendah.

DAFTAR PUSTAKA

1. HALL, E.J. and GIACCIA, A.J. Radiobiology for the Radiologist. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2006.
2. KLEINERMAN, R.A., ROMANYUKHA, A.A., SCHOUER, D.A., dan TUCKER, J.D. Retrospective Assessment of radiation Exposure Using Biological Dosimetry: Chromosome Painting, Electron Paramagnetic Resonance and the Glycophorin A Mutation Assay. *Radiation Research* 166, 287-302. 2006.
3. PINKEL, D., STRUME, T., dan GRAY, J.W. Cytogenetic Analysis Using Quantitative, High Sensitivity, Fluorescence Hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 83, 2934-2938. 1986.
4. DARROUDI, F. dan NATARAJAN, A.T. Application of FISH-Chromosome Painting Assay for Dose Reconstruction: State of Art and

- Current Views. *Radiat. Protec. Dos.* 88, 51-58, 2000.
5. EDWARDS, A.A., LINDHOLM, C., DARROUDI, F., STEPHAN, G., ROMM, H., BARQUINERO, J., BARRIOS, L., CABALLIN, M.R., ROY, L., WHITEHOUSE, C.A., TAWN, E.J., MOQUET, J., LLOYD, D.C., dan VOISIN, P. Review of Translocations Detected by FISH for Retrospective Biological Dosimetry Applications. *Radiat. Protec. Dos.* 113 (4), 396-402, 2005.
 6. IAEA. Biological Dosimetry: Chromosome Aberration Analysis for Doses Assessment. Technical Report Series No. 260. International Atomic Energy Agency, Vienna. 1986.
 7. LUCAS, J.N. Dose Reconstruction for Individuals Exposed to Ionizing Radiation Using Chromosome Painting. *Radiat. Res.* 148, 33-38. 1997.
 8. TUCKER, J.D., dan SENFT, J.R. Analysis of Naturally Occuring and Radiation-Induced Breakpoint Locations in Human Chromosomes 1, 2, and 4. *Radiat. Res.* 140, 31-36. 1994.
 9. SCARPATO, R., LORI, A., TOMEI, A., CIPOLLINI, M., dan BARALE, R. High Prevalence of Chromosome 10 Rearrangements in Human Lymphocytes after *In Vitro* X-ray Irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 76, 661-666. 2000.
 10. LOUMAHAARA, S., LINDHOLM, C., MUSTONEN, R., dan SOLAMAA, S. Distribution of Radiation-Induced Exchange Aberrations in Human Chromosomes 1, 2, and 4. *Int. J. Radiat. Biol.* 75 (2), 1551-1556. 1999.
 11. LINDHOLM, C., TEKKEL, M., VEIDEBAUM, T., ILUS, T., dan SOLAMAA, S. Persistence of Translocations after Accidental Exposure to Ionizing Radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 74, 565-571. 1998.
 12. TUCKER, J.D. FISH Cytogenetics and the Future of Radiation Biodosimetry. *Radiat. Prot. Dosim.* 97, 55-60. 2001.
 13. GARDNER, S.N., dan TUCKER, J.D. The Cellular Lethality of Radiation-Induced Chromosome Translocations in Human Lymphocytes. *Radiat. Res.* 157, 539-552. 2002.
 14. CAMPAROTO, M. L., RAMALHO, A.T., NATARAJAN, A.T., CURADO, M.P., dan SAKAMOTO-HOJO, E.T. Translocations Analysis by the FISH-Painting Method for Retrospective Dose Reconstruction in Individuals Exposed to Ionizing Radiation 10 Years after Exposure. *Mutation Research* 530, 1-7. 2003.
 15. SPRUILL, M.D., NELSON, D.O., RAMSEY, M.J., NATH, J., dan TUCKER, D. Lifetime Persistence and Clonality of Chromosome Aberrations in the Peripheral Blood of Mice Acutely Exposed to Ionizing Radiation. *Radiat. Res.* 153, 110-121. 2000.
 16. LINDHOLM, C. dan SALOMAA, S. Dose Assessment of Past Accidental or Chronic Exposure using FISH Chromosome Painting. *Radiat. Prot. Dosim.* 88, 21-25. 2000.
 17. RAO, B.S. dan NATARAJAN, A.T. Retrospective Biological Dosimetry of Absorbed Radiation. *Radiat. Prot. Dosim.* 95 (1), 17-23. 2001.
 18. BAUCHINGER, M., SCHIMD, E., ZITZELBERGER, H., BRASELMANN, H., dan NAHRSTEDT, U. Radiation-Induced Chromosomal Aberrations Analyzed by Two Colour Fluorescence *In Situ* Hybridization with Composite Whole Chromosome-Specific DNA Probes and a Pancentromeric DNA Probe. *Int. J. Radiat. Biol.* 64, 179-184. 1993.
 19. DARROUDI, F., BEZROOKOVE, V., WIEGANT, J.C.A.G., FOMINA, J., RAAP, A.K., dan TANKE, H.J. Development and Application of COBRA-FISH Technique for

- Detecting Ionizing Radiation Induced Chromosomal Aberrations in Human Lymphocytes and Fibroblast. Proceeding of Second Euroconference on Quantitative Molecular Cytogenetics. 222-226. 2001.
20. EDWARDS, A.A. The Use of Chromosomal Aberrations in Human Lymphocyte for Biological Dosimetry. *Radiat. Res.* 148, S39-S44. 1997.
21. TAWN, E.J., WHITEHOUSE, C.A., dan TARONE, R.E. FISH Chromosome Aberration Analysis on Retired Radiation Workers from the Sellafield Nuclear Facility. *Radiat. Res.* 162, 31-38.2004.
22. LINDHOLM, C. Stable and Unstable Chromosomal Aberrations among Finish Nuclear Power Plant Workers. *Radiat. Prot. Dosim.* 93, 143-150. 2001.
23. SOROKINE-DURM, I., WHITEHOUSE, C., dan EDWARDS, A. The Variability of Translocation Yields amongst Control Populations. *Radiat. Prot. Dosim.* 88, 93-99. 2000.
24. LUCAS, J.N. dan DENG, W. Views on Issues in Radiation Biodosimetry Based on Chromosome Translocations Measured by FISH. *Radiat. Prot. Dosim.* 88, 77-86. 2000.
25. LUCAS, J.N. Rapid Translocation Frequency Analysis in Human Decades after Exposure to Ionizing Radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 62, 53-63. 1992.
26. LUCAS, J.N., POGGENSEE, M., dan STRAUME, T. TRANSLOCATION BETWEEN Two Specific Human Chromosomes Detected by Three Colour 'Chromosome Painting'. *Cytogenet. Cell Genet.* 62, 11-12. 1993.
27. OESTREICHER, U., BRASELMANN, H., dan STEPHAN, G. Cytogenetic Analysis in Peripheral Lymphocytes of Persons Living in Houses with Increased Levels of Indoor Radon Concentrations. *Cytogenet. Genome Res.* 104, 232-236.2004.
28. TUCKER, J.D. dan MOORE, D.H. The Importance of Age and Smoking in Evaluating Adverse Cytogenetic Effects of Exposure to Environmental Agents. *Environ. Health Perspect.* 104, 489-492. 1996.
29. JOHNSON, K.L., NATH, J., GEARD, C.R., BRENNER, D.J., dan TUCKER, J.D. Chromosome Aberrations of Clonal Origin in Irradiated and Unexposed Individuals: Assessment and Implications. *Radiat. Res.* 152, 1-5. 1999.
30. RADFORD, I.R., HODGSON, G.S., dan MATTHEWS, J.P. Critical DNA Target Size Model of Ionizing radiation-Induced Mammalian Cells Death. *Int. J. Radiat. Biol.* 54, 63-79. 1988.
31. SAVAGE, J.R.K. dan SIMPSON, P.J. FISH Painting Patterns Resulting from Complex Exchanges. *Mutat. Res.* 312, 51-60. 1994.
32. TUCKER, J.D., MORGAN, W.F., AWA, A.A., BAUCHINGER, M., BLAKEY, D., CORNFORTH, M.N., LITTLEFIELD, L.G., NATARAJAN, A.T., dan SHASSERRE, C. A Proposed System for Scoring Structural Aberrations Detected by Chromosome Painting. *Cytogenet. Cell Genet.* 68, 211-221. 1995.
33. AWA, A. Analysis of Chromosome Aberrations in Atomic Bom Survivors for Dose Assessment: Studies at the radiation Effects Research Foundation from 1968 to 1993. *Stem Cells* 15, 163-173. 1997.
34. MOORE, D.H. dan TUCKER, J.D. Biological Dosimetry of Chernobyl Clean-up Workers: Inclusion of Age and Smoking Data Provide Improved Radiation Dose Estimates. *Radiat. Res.* 152, 655-664. 1999.
35. TUCKER, J.D., TAWN, E.J., HOLDSWORTH, D., MORRIS, S.,

- LANGLOIS, R., RAMSEY, M.J., KATO, P., BOICE, J.D., TARONE, R.E., dan JENSEN, R.H. Biological Dosimetry of Radiation Workers at the Sellafield Nuclear Facility. *Radiat. Res.* 148, 216-226. 1997.
36. BAUCHINGER, M., BRASELMANN, H., SAVAGE, J.R., NATARAJAN, A.T., TERZOUDI, G.I., PANTELAS, G.E., DARROUDI, F., FIGGITT, M., GRIFFIN, C.S., dan SNIGIRYOVA, G. Collaborative exercise in the Use of FISH Chromosome Painting for Retrospective Biodosimetry of Mayak Nuclear-Industrial Personnel. *Int. J. Radiat. Biol.* 77, 259-267. 2001.
37. SALOMAA, S., LINDHOLM, C., TANKIMANOVA, M.K., MAMMYRBAEVA, Z.Z., KOIVISTOINEN, A., HULTEN, M. MUSTONEN, R., DUBROVA, Y.E., dan BERSIMBAEV, R.I. Stable Chromosome Aberrations in the Lymphocytes of a Population Living in the Vicinity of the Samipalatinsk Nuclear Test Site. *Radiat. Res.* 158, 591-596. 2002.
38. SALOMAA, S., HOLMBERG, K., LINDHOLM, C., MUSTONEN, R., TEKKEL, M., VEIDEBAUM, T., dan LAMBERT, B. Chromosomal Instability in *in vivo* Radiation Exposed Subjects. *Int. J. Radiat. Biol.* 74, 771-779. 1998.
39. VERDPRFER, I., NEUBAUER, S., LETZEL, S., ANGERER, J., ARUTYUNYAN, R., MARTUS, P., WUCHERER, M., dan GEBHART, E. Chromosome Painting for Cytogenetic Monitoring of Occupationally Exposed and Non-Exposed Groups. *Mutat. Res.* 491, 97-109. 2001.
40. SALISSIDIS, K., GEOGIADOU-SCHUMACHER, V., BRASELMANN, H., MULLER, P., PETER, R. U., dan BAUCHINGER, M. Chromosome Painting in Highly Irradiated Chernobyl Victims: A Follow-up Study to Evaluate The Stability of Symmetrical Translocations and the Influence of Clonal Aberrations for Retrospective Dose Estimation. *Int. J. Radiat. Biol.* 68, 257-262. 1995.
41. SALISSIDIS, K., BRASELMANN, H., OKLADNIKOVA, N.D., PRESSL, S., STEPHAN, G., SNIGIRYOVA, G., dan BAUCHINGER, M. Analysis of Symmetrical Translocations for Retrospective Biodosimetry in Radiation Workers of the Mayak Nuclear-Industrial Complex (Southern Urals) Using FISH-Chromosome Painting. *Int. J. Radiat. Biol.* 74, 431-439. 1998.
42. NAKAMURA, N., MIYAZAWA, C., SAWADA, S., AKIYAMA, M., dan AWA, A.A. A Close Correlation between Electron Spin Resonance (ESR) Dosimetry from Teeth Enamel and Cytogenetic Dosimetry from Lymphocytes of Hiroshima Atomic-Bomb Survivors. *Int. J. Radiat. Biol.* 73, 619-627. 1998.
43. RAMALHO, A.T., NASCIMENTO, A.C.H., dan NATARAJAN, A.T. Dose Assessment by Cytogenetic Analysis in the Goiania (Brazil) Radiation Accident. *Radiat. Protec. Dosim.* 25, 97-100. 1988.
44. LINDHOLM, C., SALOMAA, S., TEKKEL, M., PAILE, W., KORVISTOINEN, A., ILUS, T., dan VEIDEBAUM, T. Biodosimetry after Accidental Radiation Exposure by Conventional Chromosome Analysis and FISH. *Int. J. Radiat. Biol.* 70, 647-656. 1996.