



# MEMORIAS

CONGRESO NACIONAL DE EDUCACION QUIMICA

Ixtapa, Guerrero del 21 al 25 de septiembre de 2003



## EFFECTO DE LA RADIACIÓN GAMMA SOBRE ALGUNOS INJERTOS UTILIZADOS EN APLICACIÓN CLÍNICA

**Daniel Luna Zaragoza**, Ma. Lourdes Reyes Frías y María Esther Martínez Pardo  
Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares  
dlz@nuclear.inin.mx

### Introducción

Hoy en día se dispone de diversos tejidos de origen humano, animal y sintético, estos tejidos generalmente preparados en Bancos de Tejidos, se utilizan en cirugía reconstructiva para restaurar a pacientes en diversas disciplinas clínicas.

Los tejidos más utilizados en cirugía de trasplante son el hueso, cartílago, tendón, ligamento, dura madre, válvula cardiaca, fascia lata y amnios, todos estos tejidos están compuestos de diversas células y material extracelular, siendo el colágeno la proteína más abundante de estos tejidos<sup>1</sup>.

La esterilización de tejidos biológicos para aplicaciones clínicas por medio de la radiación gamma proveniente del Co-60 produce dos efectos principales en estos tejidos, uno indeseable a dosis altas de radiación, que es el cambio inducido en la estructura química de estos tejidos y su consecuente cambio en las propiedades físicas<sup>2</sup> y el otro es la muerte de los microorganismos que conduce precisamente a la esterilización del tejido<sup>3</sup>.

El Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) cuenta con un Banco de Tejidos que utiliza la radiación gamma de Co-60 como agente esterilizante en tejidos biológicos de aplicación clínica. El tejido con el que se empezó a trabajar en este Banco es el amnios, este es una de las varias capas que componen a la placenta, que a su vez protege al bebé hasta antes del nacimiento<sup>4</sup>.

El Control Microbiológico se le realiza a cada amnios, antes de mandarlos a esterilizar, esto con el fin de determinar si la dosis de 25 kGy que se le aplica a cada tejido es suficiente para esterilizarlos. Finalmente, después de irradiar los tejidos se les realiza la Prueba de Esterilidad para comprobar su esterilidad.

### LA QUIMICA DE LOS TEJIDOS BIOLÓGICOS UTILIZADOS COMO INJERTOS

El cuerpo humano está compuesto por diversos órganos, tejidos y células, cuando alguno de estos se llega a dañar o ha sido afectado desde el nacimiento, se pueden utilizar injertos para regenerar la funcionalidad de los órganos, tejidos o células, siendo los tejidos generalmente procesados en Bancos de Tejidos bajo estrictos controles de calidad<sup>5</sup>. Estos tejidos al ser trasplantados hacen la función de prótesis biológica y casi siempre sufren resorción, al ser sustituidos por los tejidos del huésped<sup>6</sup>.

Las propiedades biológicas, químicas y físicas de los injertos como lo son su tasa de absorción, capacidad para inducir procesos de regeneración del tejido, inmunogenicidad y las propiedades mecánicas son de suma importancia desde el punto de vista clínico.

Entre los principales tejidos que componen a los injertos se encuentran el hueso, el cartílago, el tendón, el amnios, la piel, la dura madre, la fascia lata, la cornea, la esclerótica, las válvulas cardíacas, la mayoría de estos tejidos pertenecen al grupo denominado tejido conectivo<sup>1</sup>. Este tipo de



# MEMORIAS

CONGRESO NACIONAL DE EDUCACION QUIMICA

Ixtapa, Guerrero del 21 al 25 de septiembre de 2003



tejido esta estructuralmente compuesto de células, fibras y una matriz extracelular (ME), siendo la ME el principal material del que están constituidos la mayoría de estos tejidos<sup>6</sup>. La ME esta compuesta de fibras proteínicas, una sustancia intercelular amorfa y agua, esta sustancia intercelular esta compuesta por proteoglucanos (compuesto de dermatan sulfato, sulfato de condroitina, sulfato de queratano y ácido hialurónico), glucoproteínas (como la fibronectina, laminina y condronectina) y agua<sup>7</sup>.

Las fibras están compuestas de proteínas poliméricas, como el colágeno y elastina, cabe resaltar que el colágeno es la proteína más abundante del cuerpo, ya que el contenido de este es mayor al 30% del peso seco<sup>7</sup>. El colágeno esta compuesto principalmente por glicina (33%), prolina (12%) e hidroxiprolina (10%)<sup>6</sup>. Actualmente se han descrito más de veinte tipos de colágeno, siendo el colágeno tipo I el más abundante<sup>6</sup>. Este colágeno es producido por diferentes tipos de células como fibroblastos, condroblastos, osteoblastos y odontoblastos<sup>1</sup>. En el caso del hueso, cartílago y dentina se depositan cristales de hidroxiapatita en las fibras de colágeno, influyendo significativamente en las propiedades mecánicas de estos tejidos<sup>6</sup>.

## IRRADIACION DE TEJIDOS CON RADIACION GAMMA

Uno de los principales usos de la radiación ionizante, en el área médica, ha sido la esterilización de artículos médicos desechables: suturas, sondas, etc. Esta aplicación se empezó a utilizar a escala comercial a mediados de la década de los 50's, cuando se tuvo acceso a grandes fuentes de radiación, tales como plantas de irradiación gamma con fuentes de Cobalto-60 o de Cesio-137 y aceleradores de electrones. En la década de los 70's se esterilizaban con radiación menos del 10% de los artículos médicos desechables fabricados, actualmente, se esterilizan con este método casi el 50% de los mismos, con tendencia a incrementarse<sup>5</sup>.

Varios métodos han sido empleados en los bancos de tejidos para esterilizar los tejidos procesados, destinados para uso clínico. El primero de ellos fue por calor (autoclave), sin embargo, debido a la relativamente alta temperatura del proceso, algunos tejidos y materiales de empaque no pueden ser esterilizados por este método<sup>8</sup>. Esta limitante condujo al uso del óxido de etileno y a la radiación ionizante como procesos de esterilización. El óxido de etileno ha sido empleado por más de cuatro décadas para esterilizar artículos desechables de uso médico, alimentos, tejidos biológicos, etc. Sin embargo, este método está siendo restringido porque es tóxico para los trabajadores expuestos y por los residuos que quedan como el etilén-glicol y el clorhidrín-etileno y otros compuestos que pueden ser cancerígenos<sup>9</sup>.

Fue a mediados de los años 50's cuando la radiación ionizante fue introducida para la esterilización de huesos destinados para injertos, en la actualidad este método es usado de manera rutinaria en muchos bancos de tejidos en el mundo, por ejemplo, en el Banco Central de Tejidos de Varsovia, este procedimiento ha sido utilizado desde 1963<sup>5</sup>. Un estudio realizado durante 1987 y 1988 por la Asociación Americana de Bancos de Tejidos (AATB) indicó que el óxido de etileno era utilizado en dos terceras partes de los bancos establecidos, y la radiación sólo una tercera parte. Mientras que, en 1992, la radiación ionizante fue utilizada, para este fin, dos veces más que el óxido de etileno<sup>10</sup>.

En México, el ININ, cuenta con un irradiador industrial modelo JS-6500, de manufactura canadiense, con fuentes de Cobalto-60. Durante 20 años se ha prestado el servicio de esterilización por irradiación a distintas empresas que envían diferentes productos: artículos desechables de uso



médico, materias primas para elaborar productos cosméticos y farmacéuticos, y alimentos deshidratados, principalmente especias y condimentos.

Durante la esterilización de tejidos con radiación ionizante (como la radiación gamma) se debe de considerar que a dosis de radiación altas pueden provocar cambios físicos y químicos que pueden influir en los tejidos biológicos<sup>2</sup>. Debido a que este tipo de radiación produce ionización y excitación en los tejidos biológicos, lo que conduce a rupturas de enlaces en las moléculas (efectos directos de la radiación), también se producen radicales libres por efecto de la radiólisis del agua (efectos indirectos de la radiación) esto puede provocar cambios estructurales<sup>11</sup>. Como ya se mencionó el principal componente de los tejidos es el colágeno, este polímero en presencia de radiación, se ha visto que cuando se irradia en estado seco hay ruptura de cadenas polipeptídicas, mientras que si se irradia en medio húmedo se produce entrecruzamiento intra e intermolecular y el efecto degradante de este polímero es mayor conforme se aumenta la dosis de irradiación<sup>6</sup>.

Una dosis de 25 kGy para la esterilización de productos médicos desechables fue sugerida por primera vez en 1959, esta elección no fue arbitraria, sino determinada de acuerdo a información disponible<sup>12</sup>. Esta misma dosis ha sido recomendada para la esterilización de tejidos para injertos y es aplicada de manera rutinaria en muchos bancos de tejidos. Esta dosis ha sido seleccionada considerando la carga microbiana inicial en el tejido, la resistencia de los microorganismos presentes y el nivel de aseguramiento de esterilidad, el cual se ha derivado de estudios cinéticos sobre inactivación microbiana, se define como la probabilidad esperada de encontrar microorganismos sobrevivientes en una unidad de producto luego de su exposición a un proceso válido de esterilización<sup>12</sup>.

La eficiencia de la radiación ionizante radica en su capacidad para penetrar la materia, especialmente los rayos gamma y en su alta efectividad para inactivar los microorganismos. La radiación causa una elevación moderada en la temperatura, lo que permite que materiales sensibles al calor, como es el caso de los tejidos biológicos, puedan ser esterilizados. Asimismo la radiación es eficiente tanto a temperatura ambiente como a temperaturas por debajo de cero, como es el caso de los tejidos congelados, los cuales son irradiados a una temperatura entre -50 y -70 °C, aproximadamente<sup>6</sup>. La irradiación permite que los materiales sean esterilizados en su empaque final, ya cerrado, lo que evita una posible recontaminación

En el caso de los microorganismos, los blancos más sensibles a la radiación son los ácidos nucleicos, el daño causado por la radiación en estos ácidos puede ser directo, atribuido principalmente a la energía depositada o indirecto, debido a la formación de radicales libres, como resultado de la radiólisis del agua<sup>11</sup>. La radiación ionizante induce daño en la estructura del Acido Desoxirribonucleico (DNA), inhibiendo su síntesis, y genera errores en la síntesis de las proteínas, lo que conduce a la muerte celular<sup>5</sup>, esto solo en los microorganismos, ya que cabe hacer notar que los tejidos para injerto que se esterilizan por este método contienen células muertas.

## METODO Y RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLOGICO

En el año del 2002 se procesaron en el Banco de Tejidos del ININ 67 amnios provenientes de donadoras del Hospital Materno-Infantil del ISSEMYM de la ciudad de Toluca. Este Control se basa en la Norma ISO-13409 y el objetivo es realizar experimentos de dosis de verificación para alcanzar un nivel de aseguramiento de esterilidad de  $10^{-6}$ , esta dosis de verificación es la dosis a partir de la cual ya no hay crecimiento microbiano.



# MEMORIAS

CONGRESO NACIONAL DE EDUCACION QUIMICA

Ixtapa, Guerrero del 21 al 25 de septiembre de 2003



De cada amnios procesados se toman 10 muestras de 1 cm<sup>2</sup>, estas muestras se colocan en un cultivo de agar de soya y tripticaseína y se dejan incubar durante 5 días a 30°C y se determinan las colonias microbianas presentes, posteriormente se calcula la dosis de verificación mediante la Norma ISO/TR 13409<sup>12</sup>.

De los resultados obtenidos de los 67 amnios se obtuvo una dosis de verificación promedio de 1.37 kGy con una desviación estándar de 0.12.

## METODO Y RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ESTERILIDAD

Después de esterilizar a los amnios, se toman 4 muestras de 0.5-1 cm<sup>2</sup> y se siembran dos de las 4 muestras en un medio de Soya tripticaseína y los restantes en el medio fluido de Tioglicolato de sodio. El medio de Soya tripticaseína se deja incubar a 20-25°C y el medio de fluido de tioglicolato de sodio a 30-37°C, ambos durante 14 días.

De los resultados obtenidos en los 67 amnios, radioesterilizados a 25 kGy, no se observó crecimiento microbiano.

## DISCUSION

De los resultados obtenidos de la dosis de verificación promedio (1.37 kGy) y de los resultados de la prueba de esterilidad se puede concluir que la dosis de irradiación de amnios (25 kGy) es suficiente para esterilizar a los amnios procesados en el Banco de Tejidos del ININ.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Junqueriras L.C. y Carneiro J. (1987) Histología Básica. Tercera Edición, ed. SALVAT México.
2. Bailey A.J. (1968) Effect of ionizing radiation on connective tissue components. En: International Review of Connective Tissue Research, D.A. Hall, ed. Academic Press. New York vol 4.
3. Kearney J.N. (1996) Sterilization on human tissue implants, British Association of Tissue Bank Newsletter 6, 2-5.
4. Phillips G.O., Nather A., Strong D.M. y von Versen R. (2002) Anatomy and embryology of human placenta, amnion and chorion. En: Advances in Tissue Banking vol. 5, ed World Scientific, Singapore.
5. Dziedzic-Goclawska A. y Stachowicz W. (1997) Sterilization of tissue allografts. En: Advances in Tissue banking vol 1, ed. World Scientific. Songapore.
6. Dziedzic-Goclawska A. (2002) Aplicación de la radiación ionizante para esterilizar aloinjertos de tejido conectivo. En: radiación y operación de Banco de Tejidos, ed. Printing Services AC. Peru.
7. Ayad S., Boot-Handford R., Hunpries M.S., Kadler K.E. y Shuttlewirth A. (1996) The extracellular matrix. Facts Book 2<sup>a</sup> Edición, ed. Academic Press, Londres.
8. Kreicbergs A. y Kohler P. (1989) Bone exposed to heat. En: Bone transplantation. M. Aebi and Pregazzoni, ed. Springer, Berlin.
9. Parisi A.N., y Young W.E. (1991) Sterilization with ethylene oxide and other gases. En: Desinfection, sterilization, and preservation. S.S. Block, ed. Lea & Febiger, Filadelfia. 4<sup>a</sup> edición.
10. Strong D.M. Eastlund T. Y Mowe J. (1996) Tissue Bank activity in United States: 1992 Survey of accredited tissue banks. AATB Tissue and Cell Report 3, 15-18
11. Houben J.C. (1971) Free radical produced by ionizing radiation in bone and its constituents. International Journal Radiation Biology. 20: 373-389.



# MEMORIAS

CONGRESO NACIONAL DE EDUCACION QUIMICA

Ixtapa, Guerrero del 21 al 25 de septiembre de 2003



12. Technical Report ISO/TR 13409 (1996). Sterilization of health care products-radiation sterilization-substantiation of 25 kGy as a sterilization dose for small or infrequent production batches. ISO 13409.