

Libros de **Cátedra**

Principios de Radiobiología

Alba Mabel Güerci y Eliana Evelina Ocolotobiche
(coordinadoras)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

PRINCIPIOS DE RADIOBIOLOGÍA

Alba Mabel Güerci
Eliana Evelina Ocolotobiche
(coordinadoras)

Facultad de Ciencias Exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EduLP
EDITORIAL DE LA UNLP

A todos y cada uno de nuestros seres queridos, que siempre
nos acompañan en nuestros sueños

Agradecimientos

Las autoras desean agradecer:

A la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y en particular al Departamento de Física, por generar el espacio de cátedra. Asimismo y en particular, destacamos el acompañamiento incondicional tanto de las autoridades como de todos aquellos que forman parte del Instituto de Terapia Radiante CIO La Plata, por brindar un ámbito propicio para el trabajo docente y en sus comienzos al Dr. Casas (Oscar R) y a Juan (Andrieu) por haber impulsado la creación de este espacio.

A todos aquellos docentes y estudiantes que forman y formaron parte de esta Cátedra.

Y muy especialmente a nuestros colegas, que de manera genuina y desinteresada nos acompañaron en este proyecto, desde su área de experticia.

Prólogo

En la actualidad el acceso a la información se ha vuelto inédito e instantáneo. Por lo tanto, lejos de pretender construir mediante estas páginas una obra referencial o de ceñirse a la vorágine del conocimiento, este libro refleja el *encuentro* de un grupo de colegas y amigos que compartimos e intercambiamos puntos de vista sobre temas que nos apasionan, interesan o intrigan. De tal modo ha sido concebido, considerando la experticia, autoridad o apego de cada uno de nosotros, en relación a un tópico afín.

Teniendo en cuenta que la Radiobiología como un todo, comprende un terreno vasto y sumamente interesante, esperamos despertar en quienes nos acompañen, el genuino deseo de comprender los singulares fenómenos que se desatan luego de la exposición de la materia viva a las radiaciones ionizantes. En tal sentido pensamos este espacio, como punto de partida o disparador de las inquietudes profundas que nos ponen cara a cara con el verdadero conocimiento de un suceso, de un efecto o de la realidad. Esperamos que los conceptos o ideas aquí vertidas, sean el rayo que arroje *resplandor* sobre esta área del saber.

Asimismo algunas anécdotas rescatadas y atesoradas en la obra de la escritora española Rosa Montero *La insoportable idea de no volver a verte*, sobre la vida de Marie Curie, nos han ayudado a reflexionar sobre un escenario “áulico” más amplio, mediante este personaje ilustre, donde se yuxtapone lo científico con lo académico, lo áulico con lo mundano y lo profesional con lo personal. Pensamos que hay historias de vida que nos acercan a nuestra propia realidad. A como asiduamente nos debemos enfrentar al esfuerzo sostenido para alcanzar la meta, o abrirnos paso ante valores sociales que no siempre están en la misma escala que los nuestros.

Así, concebimos a nuestra cátedra de una manera más ambiciosa que un simple ambiente áulico, exponiendo leyendas de referentes no con el deseo de imitarlos, sino recapacitando sobre los valores que destacan en la práctica profesional. Principalmente el libro está dirigido a estudiantes avanzados de la Licenciatura en Física Médica, en quienes la voluntad, tesón, obsesión, esfuerzo y perseverancia de madame Curie, podrían verse reflejados. Al igual que ella, muchas veces ponemos en duda nuestra valía o genuina vocación, cuando el entorno cercano o la sociedad nos hacen dudar de ello. Si bien la humanidad “muta” y evoluciona, son los valores y miserias humanas indemnes, la fuerza modeladora que nos define personal y profesionalmente.

Alba M Güerci
Marzo 2022

Prefacio

Como Físicos Médicos es elemental poder comprender los mecanismos del cuerpo humano y cómo pueden ser modificados por diversos factores. Entre ellos, la *radiación ionizante*. Este agente es protagónico tanto para el diagnóstico como tratamiento de diversas patologías.

La Radiobiología es una ciencia en expansión con extensas contribuciones de múltiples disciplinas como la Física, Química, Biología y Medicina, entre otras. Uno de sus aspectos más relevantes, es la comprensión de los mecanismos biológicos que ocurren cuando la radiación interacciona con la materia viva y que según el contexto abarcan desde el nivel clínico al celular y molecular. Además, nos permite entender de manera cardinal, la planificación personalizada en radioterapia, la protección radiológica y las diferencias en la sensibilidad a la radiación entre los pacientes.

Según lo expuesto, entiendo esencial un abordaje inicial simple de los conceptos claves, para poder percibir mejor el avance progresivo y complejo del conocimiento, en este campo de la ciencia. Esto requiere, entre otros aspectos, contar con material bibliográfico no sólo específico sino también accesible, que acerque al estudiante o lector a la resolución de sus inquietudes. Si bien la tecnología ha facilitado el acceso a literatura muy versátil y especializada, particularmente en esta área, considero fundamental una guía de contenidos básicos, para poder aprovechar esa bibliografía específica de manera más eficaz. Por otro lado, es notable el escaso material bibliográfico sobre las bases de la Radiobiología en Física Médica y en particular, que nos ayude como estudiantes a construir el marco conceptual pertinente. El mismo es necesario, no sólo para profundizar en ciertos contenidos, sino también para aplicar los conceptos adquiridos tanto profesional como académicamente.

Es por ello, que felicito y agradezco a las autoras. Por su dedicación, entrega y esfuerzo, al haber tomado esta *iniciativa pionera en el tema de la Radiobiología*, campo que seguramente continuaremos enriqueciendo día a día. Finalmente, citando a Sócrates: "Conocer algo es haber logrado las respuestas al qué, cuándo, cómo, y por qué de ese algo". Los invito a compartir inquietudes, certezas, y respuestas del cuándo, cómo y por qué de la Radiobiología. ¿Están preparados?

Venecia Magalí Calandrón
La Plata, marzo de 2022

Índice

Introducción _____

Capítulo 1

Semblanzas ilustres de la Radiobiología _____ 14

Alba Güerci

Capítulo 2

Nociones básicas de radiaciones y magnitudes radiológicas _____ 24

Melisa Nicoud

Capítulo 3

Lesiones radioinducidas en el ADN y sus mecanismos de reparación _____ 36

Alba Güerci

Capítulo 4

Fundamentos genotóxicos y citotóxicos de los efectos biológicos radioinducidos _____ 56

Alba Güerci

Capítulo 5

Efectos de la radiación ionizante sobre moléculas y estructuras celulares _____ 76

Eliana Ocolotobiche

Capítulo 6

Efectos de la radiación ionizante en el individuo _____ 90

Alba Güerci

Capítulo 7

Efectos biológicos asociados con la irradiación prenatal _____ 116

Diana Dubner

Capítulo 8

Ensayos predictivos de radiosensibilidad _____ 124

Eliana Ocolotobiche

Capítulo 9

Generalidades del tratamiento radiante _____ 147

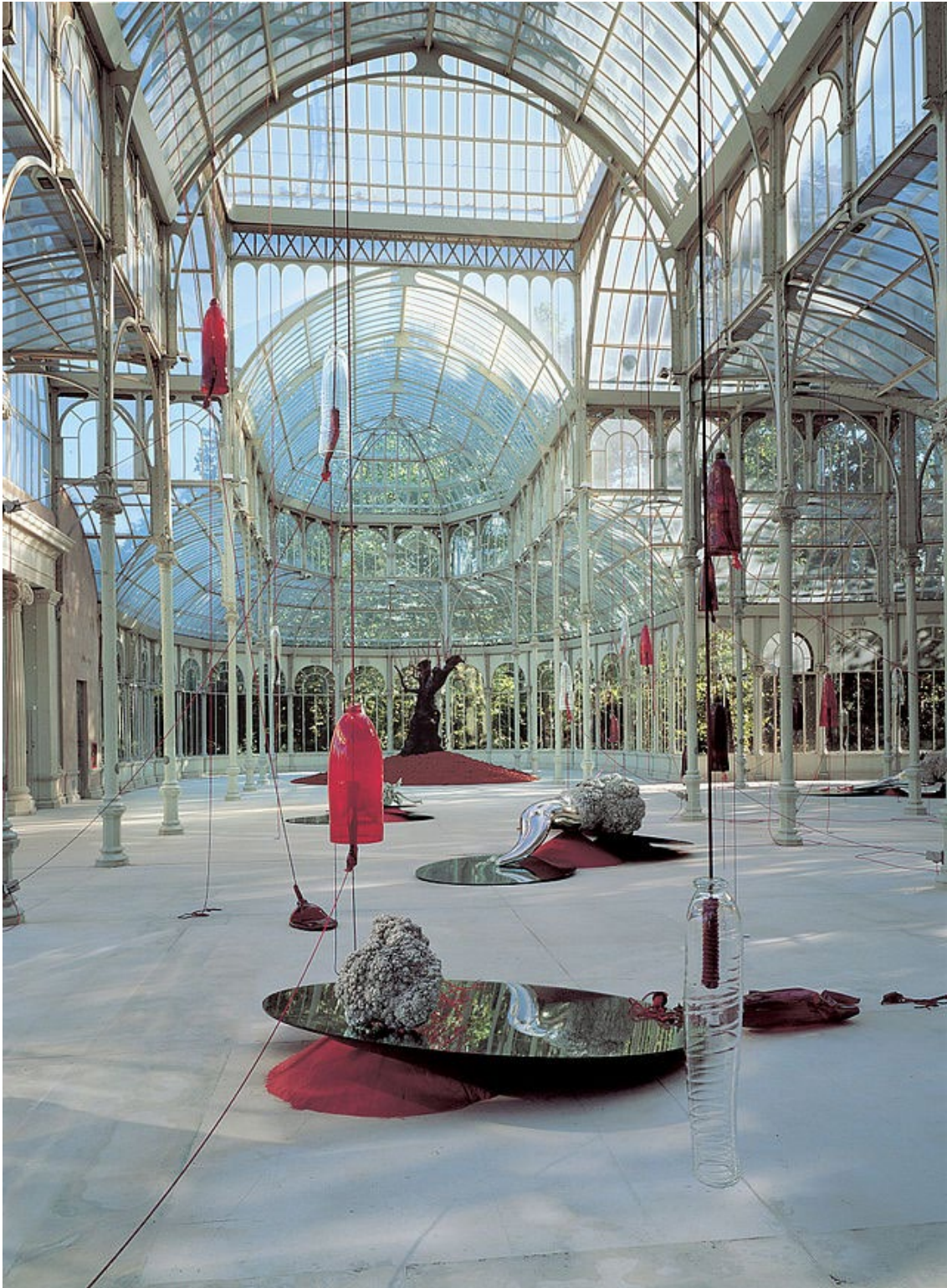
Gustavo Ferraris

Los Autores _____ 176

Introducción

Alba Güerci

Figura 1. Mutaciones.



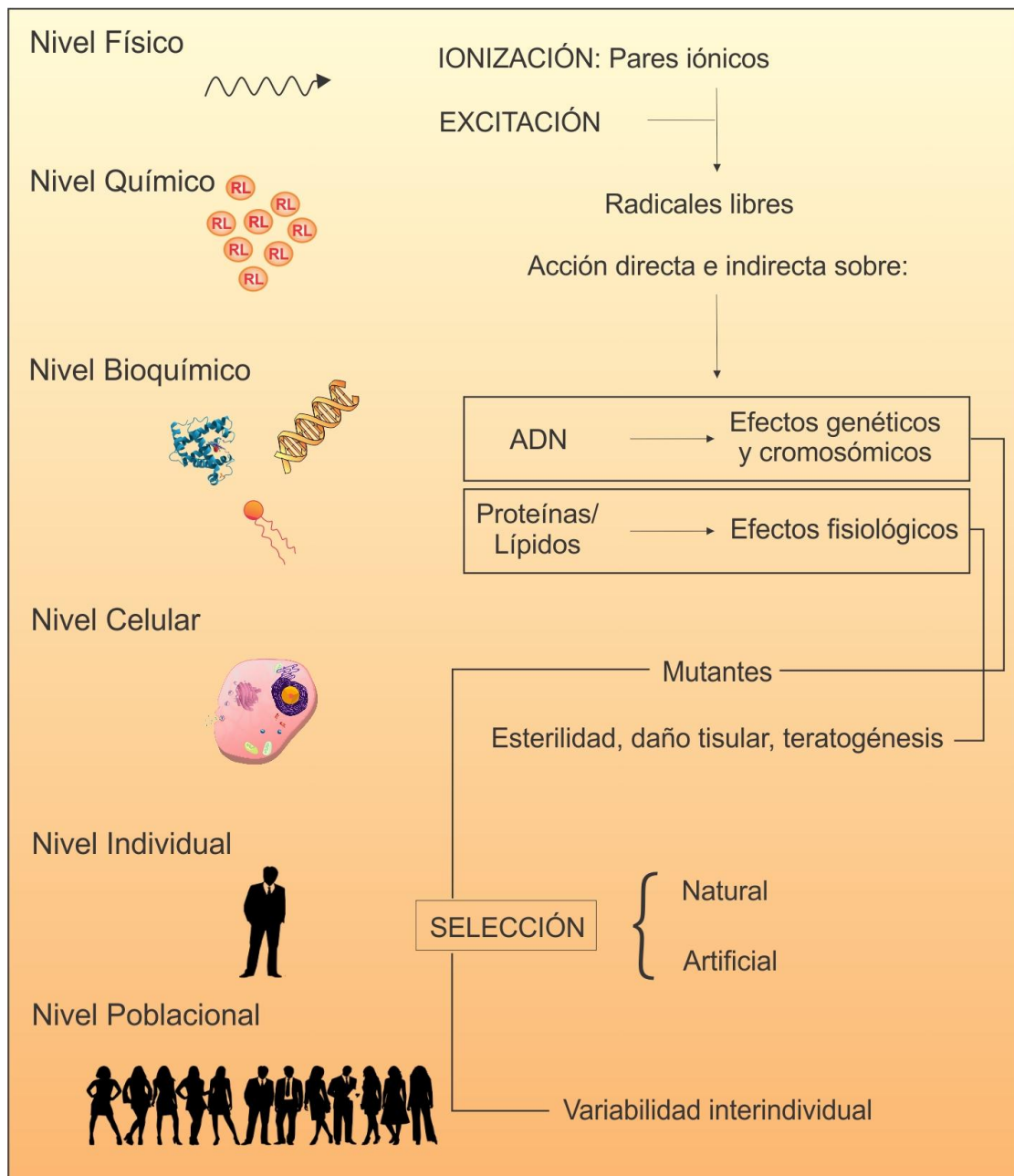
Nota. Exposición Mutaciones, Palacio de Cristal, Museo Nacional Centro de Arte Reina Sofía, Madrid 2004. Javier Pérez, CC BY-SA 3.0, via Wikimedia Commons

De manera clara los *Principios de la Radiobiología*, comprenden a los de la Biología moderna, e incluyen no solo a la Evolución, sino también otros tres principios básicos bien establecidos, que no necesitan ser referidos; no obstante, es necesario tenerlos presente, dado que surgen de manera tácita y central en la universalidad de los fenómenos biológicos. El primero de ellos alude a que todos los organismos están formados por células. Este concepto es clave, en tanto enfatiza la uniformidad de los sistemas vivientes. El segundo principio indica que todos los organismos responden a las leyes de la Física y de la Química y constituye el eje medular de la biología contemporánea. Y de este estamento surge el último principio, que hace referencia a que todos los organismos requieren energía y consolida con originalidad las leyes de la termodinámica. Se entiende así, que más allá que todos los seres vivos están formados por los mismos átomos y moléculas que el mundo inanimado, son mucho más que eso; ostentan un orden y organización particular, que se extiende en niveles de complejidad creciente. Del mismo modo que las propiedades de una molécula obedecen a la clase y disposición de sus átomos, las características de una célula dependen del tipo y organización de sus moléculas y las propiedades de una asociación multicelular de la interacción de sus diferentes células. De esta manera, concebimos que la presentación de la Radiobiología como sector particular de la realidad, deba referir inevitablemente a los distintos niveles de acción de la radiación ionizante (RI), en relación con la escala de organización biológica. Si bien la célula representa la unidad vital, desde el punto de vista físico-químico es una entidad múltiple compuesta por 10^9 - 10^{10} moléculas en movimiento activo. La absorción de energía por ella, es el primer paso de una serie de acontecimientos que provocan cambios morfológicos y funcionales. Comienza siendo un proceso físico, con ionizaciones y excitaciones atómicas, desplegando luego aspectos químicos, bioquímicos, citológicos, histológicos y orgánicos, donde en cada nivel, la energía absorbida se traduce en distintas manifestaciones dentro del sistema biológico.

De acuerdo con lo expuesto, la interacción inicial de las RI con la materia viva a nivel de los electrones, sucede en el orden de nano a attosegundos (Etapa Física). Estos cambios atómicos dan soporte a modificaciones moleculares, en segundos a horas posteriores (Etapa Química). Estas alteraciones moleculares pueden devenir en cambios celulares que persisten horas, décadas y hasta generaciones (Etapa Biológica). Es decir, las transformaciones iniciadas por pares iónicos, pueden afectar puntos sensibles que las hagan aumentar en importancia,

según su función biológica. Si estos blancos son los genes, la trascendencia derivará en efectos hereditarios y/o carcinogénicos, en tanto que si la afección compromete a enzimas o proteínas, pueden ocurrir trastornos fisiológicos. El conjunto de estos efectos constituye la acción de la RI a nivel celular y dado que los individuos están constituidos por células interconectadas, la yuxtaposición e interacción de los efectos celulares dará lugar a la acción de la radiación a nivel del individuo. Finalmente, sobre la variabilidad genética de los organismos, actuarán las fuerzas de selección (natural o artificial), dando la respuesta que determina la acción de la RI a nivel poblacional (Figura 2).

Figura 2. Niveles de Acción de la Radiación Ionizante.



La Física de la vida

Para quienes observamos la naturaleza, desde su origen la vida no ha dejado de ser asombrosa. Antes de su existencia en nuestro planeta, la energía libre procedente del sol se disipaba como calor e irradiaba al espacio. A la sazón, mediante una serie articulada de hechos fortuitos, fueron surgiendo los sistemas vivos desde niveles simples de organización hacia una progresión constante de complejidad, atrapando y canalizando esa energía libre para conservar y aumentar su orden (Segunda Ley de la Termodinámica). El proceso evolutivo modeló, aún en volúmenes ínfimos, un grado de organización sublime expresado magníficamente en toda la dimensión de la vida.

Los apasionados de la *Biología*, sabemos bien que los organismos se distinguen de manera categórica de cualquier otra porción de materia que pueda ser abordada en nuestro mundo cotidiano. Por ejemplo, el cristal periódico en el que se organiza nuestro ADN, lejos de ser una tediosa repetición de monómeros, constituye un diseño elaborado y lleno de sentido. Las biomoléculas excepcionalmente grandes de un organismo y los procesos que experimentan, deben su precisión a la *cooperación* de un número elevado de átomos. De esta manera, un gen que involucra algunos miles de átomos, desarrolla una actividad regular y ordenada con una durabilidad que raya el milagro. Así, la permanencia de las características a través de las generaciones, resiste durante largos períodos de tiempo a la influencia perturbadora del movimiento térmico individual de cada uno de sus átomos.

Los conceptos entrelazados de la Teoría Cuántica y la Teoría de la Mutación, proponen que los umbrales de energía que separan una configuración atómica existente de otra posible (mutación) son altos e implican un salto cuántico. Esto hace que estos cambios sean poco frecuentes y compatibles con la evolución; si fueran habituales los individuos adaptados perecerían. La estabilidad que resulta de la alta permanencia de los genes es esencial para la continuidad de la vida. No obstante, en términos radiobiológicos, el nivel de mutaciones inducidas será proporcional a la dosis de radiación y dependerá de la densidad de ionización. La energía necesaria para lograr el salto cuántico será aportada por el proceso de ionización atómica y en muchos casos, más que una mera transición en la configuración atómica, puede generar una lesión a nivel cromosómico.

Entendemos así que la vida parece ser el comportamiento de la materia, no asentado exclusivamente en la tendencia de pasar del desorden al orden, sino más bien, en el mantenimiento de un orden existente preestablecido. Como advertimos, el bajo estado de desorganización de la materia viva se conserva por un aporte constante de energía libre, que si se suspende da paso a la muerte (estado de mayor desorganización). Este lábil sistema representa un estado estacionario y no un equilibrio (energía libre baja/desorden extremo). De este modo, el almacenamiento y expresión de la información genética tienen un costo energético, sin el cual las estructuras que atesoran esa información estarían perturbadas y sin sentido. Los organismos nunca están en equilibrio con su entorno; sus moléculas difieren en cuanto a características y concentración de

las del medio que los rodea y se sintetizan y degradan continuamente mediante un flujo constante de masa y energía, constituyendo la máxima expresión de un estado estacionario dinámico.

Como conclusión de estos párrafos, se podría inferir que más allá de las leyes que gobiernan el universo, la lógica molecular de la vida es insuperable.

Referencias

Figura 1. Pérez J. 2012. Exposición Mutaciones. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File: Mutaciones.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mutaciones.jpg)

Curtis H y Barnes NS. (1989). Introducción y Átomos y Moléculas. Curtis H y Barnes NS. Biología. Quinta Edición. pp 35-62. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana.

Lacadena, JR. (1996). Inducción de Variaciones Cromosómicas Estructurales. Lacadena, JR. Citogenética (Primera Edición). pp 82, 150-151. Editorial Complutense. España.

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. (2014). Fundamentos de la Bioquímica. Nelson DL, y Cox MM. Principios De Bioquímica (Sexta Edición). pp 3-38. Estados Unidos. Editorial Macmillan Learning.

Lehninger AL, Nelson DL, y Cox MM. (2014). Bioenergética y tipos de reacciones bioquímicas. Nelson DL, y Cox MM. Principios De Bioquímica (Sexta Edición). pp 506-510. Estados Unidos. Editorial Macmillan Learning.

Nias AHW. (1998). History and Definitions. Nias AHW. An introduction to Radiobiology. pp. 89. Inglaterra. Ed Wiley.

Shödinger E. (2001). Que es la vida (Quinta Edición). Barcelona. Ed. TusQuets.

CAPÍTULO 1

Semblanzas ilustres de la Radiobiología

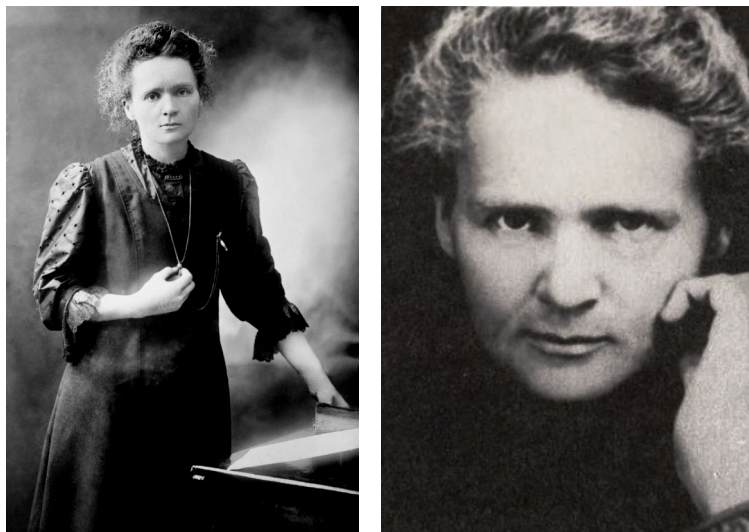
Alba Güerci

Una mente sagaz y voluntad férrea: Marie Curie



Todos aquellos que hemos realizado travesías en el área de la Física Médica o la Radioterapia (entre otras), en algún momento, sino muchos, nos hemos encontrado con Madame Curie. Su nombre representa el ideal de la ciencia tanto por sus dos premios Nobel, como por la desafiante mirada que esconde su mente inquieta y brillante. Si bien diversas biografías han relatado su vida, la escritora y periodista española Rosa Montero destaca su perfil más humano, fuertemente emocional pero menos conocido, en su libro *La ridícula idea de no volver a verte*, narrando desde el recuerdo común de las pérdidas afectivas o historias que marcan la vida, situaciones que permiten acercarnos a este personaje emblemático de la ciencia. La expresión siempre dura de su rostro, invita a percibir el temple de una mujer fuerte y decidida a luchar por sus propios deseos, enfrentando a todo: la sociedad machista y estereotipada de su época y a una vida difícil desde siempre.

Figura 1.1

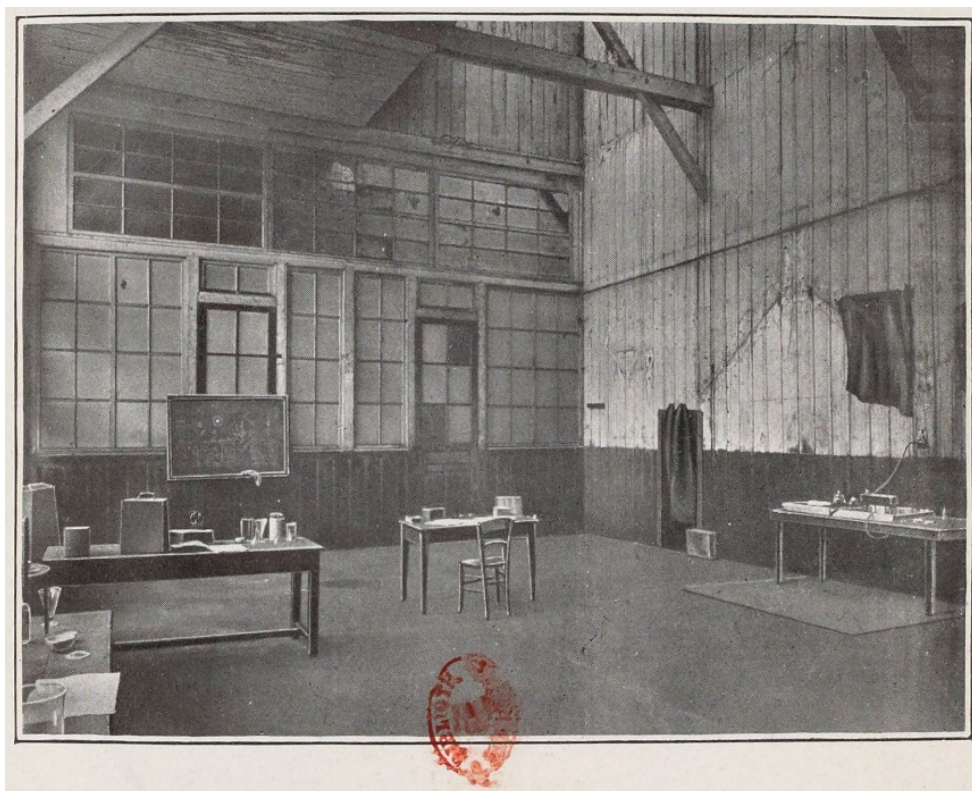


Nota. Izquierda: Marie Curie, 1898 (Dominio público). Derecha: "Lo que predomina en su retrato es un entrecejo voluntarioso, una frente embestidora, una boca apretada del esfuerzo" (Rosa Montero. La ridícula idea de no volver a verte. 2014).

Manya Salomea Skłodowska (1867-1934), fue la quinta hija de un matrimonio culto e inteligente. Su madre era directora de una prestigiosa escuela y su padre profesor de Física y Química. A los once años perdió a su progenitora quien al enfermar de tuberculosis pudo tener poco contacto con sus hijos. Previamente había perdido a su hermana mayor Zofía, por tifus. A pesar de estos duros trances fue una alumna destacada; luego de terminar con medalla de oro el nivel secundario de educación, estudiaba por las noches para continuar su formación en el extranjero. Estaba dispuesta a hacer lo necesario para alcanzar sus objetivos, en medio de una Polonia ocupada, donde las mujeres no podían ir a la Universidad. La falta de recursos y opciones la impulsaron a incursionar como institutriz, sumando una nueva penuria al enamorarse del hijo mayor de la familia para la cual trabajaba, quien estaba estudiando matemáticas en Varsovia. El romance fue severamente condenado, derivando en la humillación y profunda desdicha de Marie. Por otra parte, durante la represión rusa adoptó una posición ideológica nacionalista. Organizó una escuela clandestina para enseñar a leer y escribir polaco a los campesinos y ayudó a los obreros. En cuanto a sus ideas más profundas, fue partidaria del positivismo de Comte y se apartó de la religión concibiendo a la ciencia como único método para conocer la realidad. Definitivamente llegó a Francia (1891) y cambió su nombre (Manya) dando el giro que deseaba a su vida. Comenzó sus estudios de Física en la Sorbona, donde transcurrieron cuatro años de necesidades y frío, pero que siempre los recordó como una época feliz. Sin sorpresa, la dama se licenció, siendo el primer promedio de su promoción y obsesiva perfeccionista, continuó con la Licenciatura en Matemáticas.

En 1894 un amigo en común le presentó a Pierre Curie, quien a los 35 años aún no se había doctorado y vivía con sus padres. Ella fue su anclaje a la realidad. El amor a la ciencia los unió, pues como dice Rosa Montero “*ambos eran unos frikis*”. Como tal, si bien ella era extravagante para su época, él también era singular. Al año siguiente, cuando se casaron, con el dinero que les habían regalado por la boda compraron dos bicicletas y salieron de luna de miel a recorrer Francia. Tuvieron dos hijas, Irene (1897) y Eve (1904) y compartieron muchas vivencias hasta la muerte de Pierre, sobre todo la pasión por la investigación científica:

En aquel miserable hangar pasamos los años más felices de nuestra vida, consagrados por completo al trabajo (...) Sumida en la quietud de la atmósfera de investigación, sentía una dicha infinita, y me exaltaba con los progresos que permitían abrigar la esperanza de lograr mejores resultados aún (...) Recuerdo la felicidad de los ratos dedicados a discutir sobre el trabajo, mientras recorríamos el hangar de un extremo a otro. Uno de nuestros grandes deleites era acudir al laboratorio de noche; por todas partes resplandecían las tenues siluetas iluminadas de los tubos y las cápsulas que contenían nuestros productos. Era una visión muy hermosa que nunca dejaba de asombrarnos. Los tubos brillantes parecían pálidas luces feéricas. (Diario de Marie Curie. Rosa Montero. La ridícula idea de no volver a verte. 2014).

Figura 1.2

Nota. Hangar en el que se realizaba el tratamiento químico del mineral y la concentración del radio (Dominio público)

Por aquellos años, en 1895 el alemán Wilhelm Röntgen había descubierto accidentalmente los rayos X. El hallazgo había causado sensación y la primera radiografía de la mano de su mujer dio la vuelta al mundo. Los rayos embelesaban a la población. Esto motivó a Henri Becquerel a investigar si había una fluorescencia natural semejante a esos rayos (artificiales) y por casualidad descubrió el Uranio. Esta emisión de rayos que no se podían ver, fue el tema que atrajo a Marie Curie para su doctorado. El aire próximo a esta emisión tenía la propiedad de conducir electricidad. Su talento la indujo a medir la conductividad del aire para estudiar el fenómeno, valiéndose de un electrómetro creado por su esposo. A medida que avanzaba la investigación, se iba poniendo compleja e interesante, y entonces Pierre se sumó a su esposa dejando a un lado sus propios proyectos. Descubrieron que la peblenda aumentaba la conductividad del aire más que el uranio extraído de ella, lo cual sugería la existencia de algún otro elemento más radioactivo. Debieron procesar más de diez toneladas del mineral, durante tres extenuantes años, para obtener una décima de gramo de cloruro de uranio y finalmente extraer el radio, sustancia ínfima que flameaba con un fulgor verde azulado, tan bello como mortal. Si bien aislaron este elemento en 1902, cuatro años antes habían descubierto el Polonio.

Fiel a su estilo, Marie fue la primera mujer en doctorarse en Ciencias en Francia, con nota máxima en la Sorbona (1903). En la cena de festejo de este logro, Pierre sacó un frasquito con radio cuando los invitados salieron al jardín, como quien enciende fuegos artificiales. Rutherford escribió: “la luminosidad era brillante en la oscuridad y fue un espléndido final para un día inolvidable”

Figura 1.3



Nota. Izquierda: Marie y Pierre Curie, 1903. Derecha: Diploma del Premio Nobel en Física a Pierre y Marie Curie, diciembre de 1903 (Imágenes de dominio público)

El mayor logro de Marie fue emplear un método nuevo para descubrir estos elementos midiendo su radioactividad. No obstante el hallazgo, pretender brillar en una época dominada por el hombre era anormal y hasta grotesco. Tal es así, que los científicos que propusieron el Nobel, sólo habían nominado a Pierre y Becquerel. Ella hubiera quedado excluida si no fuera por el reconocimiento de su esposo. Si bien con este galardón llegó reconocimiento mundial, la fama les robó tiempo. No obstante, dejaron de padecer penurias económicas y se sintieron considerados, en tanto todo su trabajo lo habían desarrollado sin respaldo financiero y en un hangar viejo y descuidado. Además, la Sorbona le ofreció a Pierre la cátedra de Física General y Radiactividad, en tanto que a Marie la puso al frente de un laboratorio. Asimismo, el compromiso humanitario de los Curie quedó demostrado en la decisión de no patentar su descubrimiento, renunciando a beneficios materiales y publicando sus resultados sin reserva. Bajo el mismo ideal, Röntgen donó el dinero del premio Nobel a sociedades de beneficencia y murió casi en la indigencia.

Amén de la repercusión que tuvieron ante la Academia de Ciencias en 1898, el descubrimiento de los Curie encandiló a toda la sociedad y la especulación del mercado no se hizo esperar. El delirio radioactivo alcanzó desde su uso para cosméticos (cremas rejuvenecedoras, lápices labiales, cremas capilares), pastas dentales y hasta lanas para bebés. De manera inaudita, se utilizó radio para pintar la esfera de relojes y hacer visible la hora en oscuridad: entre 1922 y 1924 nueve operarias de una fábrica murieron, ya que para pintar los números, humedecían el pincel con su saliva. No obstante, esta furia de consumo duró tres décadas para combatir desde artritis a impotencia, o desde catarros a neuralgias. En 1925 hubo un penoso incidente. El falso doctor (William Bailey) patentó y comercializó una solución de agua con isótopos radioactivos, “Radithor”, para curar más de un centenar de enfermedades. El producto llegó al campeón de golf Eben Byers, por un dolor crónico que padecía en el brazo. En 1932 murió por anemia severa, destrucción ósea masiva, delgadez extrema y disfunción renal. En relación con los efectos nocivos de la radiación, el propio Pierre ya era una de las primeras víctimas, cuando resbaló

un día de lluvia ante un carro, que lo atropelló y mató en el acto (1906). Y también Marie sufría la debilidad y fatiga debidas a la constante exposición, malestares que la acompañaron durante décadas hasta su muerte. De igual modo y venerando la “herencia”, Irene también murió a los 59 por leucemia radio-inducida, al igual que su marido con quien compartió el nobel (Frédéric Joliot). Sólo Eve, pianista, escritora y periodista, quien jamás se acercó a nada que fuera radio-activo (excepto a su familia) murió a los 102 años.

Pierre Curie murió a los 47 años cuando Marie tenía 38. Esta gran pena hizo que se refugiara en el trabajo y aceptó la cátedra de Pierre en la Sorbona: fue la primera mujer que enseñó en esa jerárquica institución. También en esa época profundizó sus intereses humanitarios, en tanto sentía el deber moral de hacer algo por el mundo. Luego de cuatro años de duelo, Marie formalizó una relación con Paul Langevin, un físico eminente que estaba casado. Esta situación la llevó a ser acusada de modales impropios y a un escándalo justo en el momento de la comunicación de su Nobel en Química (1911). Si bien la instaron a no ir a Suecia a recibir el galardón, asistió a la ceremonia y dedicó el premio a Pierre Curie. A la postre y a pesar del divorcio de Langevin, no continuaron más que una amistad y luego de una larga y doliente depresión, recién regresó a su laboratorio en 1913.

Figura 1.4



Nota. Petit Curie, unidad militar hospitalaria móvil de rayos X del 1915 (Dominio público)

Como mujer de acción, asumió su compromiso ante la Primera Guerra Mundial. El 3 de setiembre de 1914 resguardó la reserva de radio cargándola sola en tren y transportándola desde París a Burdeos durante 24 horas (aproximadamente entre 20-30 Kg). Con 47 años ya estaba débil y avejentada, pero gracias a su crianza y a la vida hostil que había padecido, tenía un temple sobrehumano. Al regresar a la “ciudad luz” y ver a los heridos resistiendo, pensó en los rayos X para diagnosticar las lesiones de batalla. En tiempo record creó unidades móviles (las

petit Curie) para hacer radiografías en las trincheras y en el campo de batalla. Irene, de tan sólo 17 años, trabajó fuerte junto a ella.

Sólo después de muchos años Marie accedió a establecer normas de seguridad en su laboratorio. Pero ni ella ni su hija las respetaban. Su defensa del radio era tan obstinada, que en los informes que le solicitaban, declaraba que si bien era necesario advertir su riesgo, no era consciente de accidentes entre el personal expuesto. Sólo transcurrido el tiempo, cuando su salud estaba destruida y casi ciega, Marie admitió que la manipulación del radio entrañaba ciertos peligros. Si bien se atribuye al “Clan Curie” una dualidad de inocencia/irresponsabilidad, propio de los científicos con sus “tesoros”, también Becquerel se quemó el pecho, llevando un pequeño tubo con radio en el bolsillo de su chaleco. Finalmente el legado hacia los hijos, en algunos casos proyecta y perpetúa los deseos. Irene, brillante y obediente no sólo siempre la había seguido incondicionalmente en todo, sino también había aceptado continuar el mandato de Pierre: ser su sucesora. Enemiga como su madre de pompas y frivolidades, también conquistó con su esposo (Frédéric Joliot) un Nobel en 1935. El matrimonio también compartió una hija, Héléne, quien se casó con el nieto de Langevin, reivindicando a su abuela.

Figura 1.5



Nota. Tumba de Marie y Pierre Curie en el en el Panteón de París

El 4 de julio de 1934 terminó la existencia de esta mujer singular, que no tuvo modelos de referencia; que se planteaba objetivos altos y no se distraía en banalidades. Esta polaca que si bien austera, no era carente de refinamientos y placeres. Amaba el campo, andar en bicicleta y siempre tener flores frescas en su casa. Madame Curie falleció a los 67 años con la imagen de una débil anciana golpeada por la vida. Diagnosticada de Anemia aplásica perniciosa y envenenada por el radio, fue la primera mujer en ser enterrada por sus méritos, en el Panteón de personajes ilustres de París. Su expresión seria, refleja a una mujer que alcanzó sus metas, decidida a enfrentar diversas dificultades con una tenaz y apasionada personalidad.

Vocación definida y espíritu desinteresado: Wilhelm C. Röntgen

W.C. Röntgen

Otra emblemática figura, sin duda fue aquel físico alemán nacido en Lennep, el 27 de marzo de 1845, quien con su descubrimiento de los rayos X cambió el mundo y posibilitó un trascendental avance para la medicina: Wilhelm Conrad Röntgen. Provenía de una familia distinguida dedicada al comercio textil, que en 1848 se trasladó a los Países Bajos por motivos comerciales, con la idea de que su hijo en el futuro se hiciera cargo del negocio familiar. En 1862, sus padres lo inscribieron en la Escuela Técnica de Utrecht. En este pueblo, vivió en casa de un amigo de su padre, médico y profesor de química en la universidad, quien influyó de manera decisiva respecto a su inclinación hacia las ciencias naturales. No obstante, no pudo concluir el secundario, dada su expulsión (probablemente injusta) por haber dibujado la caricatura de un profesor. Al no tener el diploma para inscribirse en la universidad, concurrió como oyente a la Universidad de Utrecht, donde se enteró que el Polytechnikum en Zürich, recientemente fundada, admitía estudiantes mediante examen de ingreso, aun sin certificación de estudios secundarios. Así realizó la carrera de Ingeniería Mecánica en Suiza, transcurriendo años fundamentales para su formación (1865-1869). Luego comenzó su posgrado y se doctoró en Física en 1869, siendo fuertemente influido por un joven profesor, August Kundt (1839-1894), quien fue su mentor.

Figura 1.6

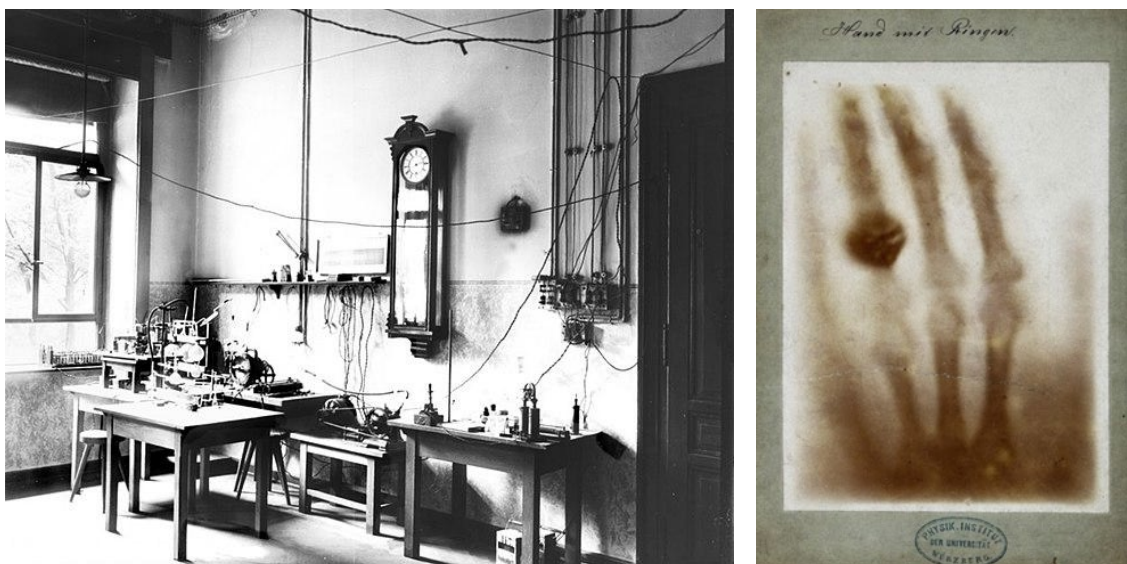


Nota. Izquierda: Roentgen con sus padres. Derecha: Roentgen y su esposa, Anna Bertha (Busch U., 2016)

Por otra parte, también en Zürich conoció a Anna Bertha Ludwig (1839-1919), hija del dueño de una taberna, con quien se comprometió en 1869 y se casó a principios de 1872 en Apeldoorn. Si bien los Röntgen habían aprobado el romance de su hijo, la boda fue un trance difícil; como la familia Ludwig no pertenecía al mismo estrato social, no fueron invitados al evento. Estuvieron casados y unidos durante 47 años hasta el fallecimiento de Bertha, a quien Röntgen cuidó por sus enfermedades crónicas hasta 1919.

Roentgen comenzó su carrera junto a Kundt, reconocido como uno de los físicos alemanes más importantes del siglo XIX. En 1870, se instalaron en un nuevo laboratorio en Würzburg (norte de Alemania), y dos años después en Estrasburgo (Francia), donde habían ofrecido un cargo a Kundt en una nueva universidad nacional de élite. Asimismo, el discípulo obtuvo la "habilitación" (título académico de estudios superiores que permite aceptar una cátedra universitaria en Alemania) y en 1875 aceptó su primera invitación para ocupar una cátedra en el campus de Hohenheim. No obstante, el cargo como profesor de Matemática y Física lo decepcionó y un año después volvió a Estrasburgo. Posteriormente, en 1879 obtuvo su primera designación como profesor titular en la Universidad de Giessen y dirigió un instituto de investigación, a partir del cual se posicionó como excelente investigador y profesor exigente. Luego, en 1888 lo convocaron de Würzburg, donde había más estudiantes y el laboratorio era más adecuado a sus intereses, al igual que sus honorarios.

Figura 1.7



Nota. Izquierda: Laboratorio de Röntgen donde descubrió los rayos X, Universidad de Würzburg. Derecha: una de las primeras radiografías médicas realizadas por Röntgen. Corresponde a la mano de su esposa, Anna Bertha Ludwig, 1895 (Imágenes de dominio público)

Si bien Röntgen fue una persona respetada y querida en el ámbito académico, no eran de su agrado las conferencias tediosas ni las convenciones científicas. Sus publicaciones tempranas apenas tuvieron repercusión e incluso sus colegas las tildaron de poca originalidad. Siempre quedó la duda de cómo fueron los hechos del 8 de noviembre de 1895, noche del descubrimiento, en tanto había dado instrucciones de quemar parte de sus pertenencias después de su muerte. Por aquella época, muchos físicos estaban estudiando la naturaleza de los rayos catódicos o de electrones. Probablemente mientras experimentaba con estos rayos, observó accidentalmente la rara luminiscencia de un papel pintado con una sustancia fluorescente sensible a la luz. El papel estaba a cierta distancia del tubo de descarga de gas con el que estaba trabajando y aun después de haber cubierto el tubo con cartón, la fluorescencia no cedió. Así reconoció que había

tropezado con algo nuevo, y los días siguientes se dedicó a analizar minuciosamente las propiedades de estos rayos. Los examinó con tanta precisión, que pasó mucho tiempo para sumar otros hallazgos a su investigación. Los puntos clave establecían que los rayos podían penetrar casi todo, incluida la mano de su esposa, pero no atravesar los huesos, que dejaban una sombra sobre una placa fotosensible. Los resultados fueron publicados titulado al artículo como "Sobre una nueva clase de rayos". En pocos días, la noticia dio la vuelta al mundo y este hombre amable pero reticente se transformó en el primer científico atacado por la fama. También la comunidad científica recibió la noticia con entusiasmo y siguieron distinciones y premios. Pero este entorno lo agotó, ya que le dificultaba su rutina en el laboratorio. Por esta razón terminó alejándose tanto del público, como de sus colegas.

Figura 1.8



Nota. Chocolate Guérin-Boutron en reconocimiento al Dr Roentgen, con la leyenda: "Los benefactores de la humanidad. Röntgen encuentra los rayos catódicos que prestan grandes servicios a la medicina y la cirugía" (Dominio público).

El comienzo del siglo XX fue la cumbre de su carrera, en tanto poco después de la oferta de la Universidad Ludwig Maximilian de Múnich (1900), llegó la postulación al Premio Nobel (1901), cuya recompensa donó a la universidad. Dada su sobria personalidad, no sólo se opuso a patentar el hallazgo, sino también a que los rayos llevaran su nombre. Más allá de esto y venerando el egocentrismo científico, algunos investigadores lo atacaban alegando que los rayos habían existido desde siempre y que él sólo los había percibido. Cosas del éxito.

A partir de la Primera Guerra Mundial, sobrevino la época triste de su vida, no sólo por este evento, sino también por la pérdida de su amigo el biólogo Theodor Boveri y posteriormente de su esposa (1919). La esposa e hija de Boveri fueron entonces casi su único entorno social. Así, decidió retirarse de la docencia y pensar en su última voluntad: ceder sus publicaciones y medalla del Nobel a la Universidad de Würzburg y quemar sus notas y documentos personales para proteger su privacidad. Si bien padeció de cáncer en los intestinos, la enfermedad no fue relacionada con la

radiación, en tanto no había trabajado durante mucho tiempo en el tema y sobre todo porque fue un pionero en el uso de la protección adecuada. Falleció a los 78 años de edad (1923), en Múnich. Desde su descubrimiento los rayos X comenzaron a utilizarse para revelar las más originales realidades. El uso de la radiografía se aplicó a diversos objetos, como por ejemplo para analizar la historia de cuadros, obras de arte y piezas de museo. Indagar sobre versiones primitivas y vacilaciones del pintor. El informe más antiguo data de febrero de 1896 y refiere a la investigación realizada en el Museo de Historia Natural de Viena, donde se descubrió que una momia de aspecto humano correspondía a un ave de sustancial dimensión. Asimismo, millones de soldados heridos y mutilados durante la Primera Guerra Mundial utilizaron este valioso hallazgo.

Referencias

- Figura 1.1. Montero R. (2014). La ridícula idea de no volver a verte. Seix Barral.
- Figura 1.2. Curie P. (1908). Sala en la que se realizó el rastreo químico del mineral y la radioconcentración. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Curie__%C5%92uvres_de_Pierre_Curie,_1908_-_PI._II_-_Vue_2.png
- Figura 1.3. Izquierda: Autor desconocido. (1903). Pierre Curie y Marie Sklodowska Curie. Derecha: dannybalanta. (2011). Premio Nobel de Física de Marie y Pierre Curie 1903. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Marie_Curie_et_Marie_Sklodowska_Curie_1903.jpg.
- Figura 1.4. Autor desconocido. (1915). Marie Curie - Mobile Military Hospital X-Ray-Unit. https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Marie_Curie_-_Mobile_X-Ray-Unit.jpg.
- Figura 1.6. Busch, U. (2016). Wilhelm Conrad Roentgen. El descubrimiento de los rayos x y la creación de una nueva profesión médica. Revista Argentina de Radiología, 80(4):298-307.
- Figura 1.7. Izquierda: Autor desconocido. (1895 and 1900) Laboratorio de Röntgen. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?search=laboratory+W%C3%BCrzburg&title=Special:MediaSearch&fulltext=Buscar+&type=image> Derecha: Röntgen W. (1895). Primera radiografía de la mano de la esposa de Röntgen, Anna Bertha Ludwig. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?search=Anna+Bertha+Ludwig&title=Special:MediaSearch&fulltext=Buscar+&type=image>.
- Figura 1.8. Autor desconocido. (1900). Chocolate Guérin-Boutron. Dr. Roentgen. Los bienhechores de la humanidad. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?search=chocolats+gu%C3%A9rin+boutron+roentgen&title=Special:MediaSearch&fulltext=Buscar+&type=image>
- Castellarnau A y Muñoz A. (2019). *Marie Curie*. Italia. Ed. EDITEC.
- Montero R. (2014). La ridícula idea de no volver a verte. Barcelona. Editorial Seix Barral.
- Moledo L y Rudelli M. (1996). Dioses y Demonios en el Átomo. De los Rayos X a la bomba atómica. Buenos Aires. Editorial Sudamericana.
- Glasser O. (1993). Wilhelm Conrad Röntgen and the early history of the Roentgen rays. San Francisco. California. Ed. Norman.

CAPÍTULO 2

Nociones básicas de radiaciones y magnitudes radiológicas

Melisa Nicoud

Figura 2.1



Senderos ondulados.

Introducción

Los efectos biológicos de la radiación, son la consecuencia de una serie de sucesos debidos al pasaje de este agente a través del organismo, en el cual van depositando su energía y produciendo diversos eventos físicos y químicos. Inicialmente se producen ionizaciones y excitaciones de los átomos que se interponen a la trayectoria de la radiación. Estas perturbaciones físicas conducen a reacciones fisicoquímicas, luego a reacciones químicas y finalmente a efectos biológicos. Junto con la caracterización de las radiaciones, en este capítulo se describen brevemente sus mecanismos de interacción con la materia y las principales magnitudes radiológicas que permiten tener en cuenta el efecto biológico y el potencial riesgo de las radiaciones ionizantes.

Caracterización de las radiaciones

La radiación es la propagación de energía en forma de partículas subatómicas y de ondas electromagnéticas a través del vacío o de un medio material. Independientemente de esta naturaleza corpuscular u ondulatoria, si la radiación transporta la energía suficiente para ionizar el medio que atraviesa, constituye una radiación ionizante. En caso contrario, se habla de radiación no ionizante.

La *radiación ionizante* (RI) está constituida de partículas con o sin carga eléctrica y es aquella con la capacidad de causar ionización, es decir, con la energía suficiente para arrancar un electrón orbital. En este proceso se produce un par iónico, formado por el electrón eyectado y un ion con carga positiva. Se clasifica a la RI como: a) directamente ionizante, si está constituida por partículas con carga eléctrica como los electrones, partículas β^- , β^+ , protones, deuterones y partículas alfa que interactúan directamente con los electrones repeliéndolos o atrayéndolos según la carga que tenga la partícula incidente. b) indirectamente ionizante si está constituida por partículas sin carga eléctrica, propiamente fotones y neutrones quienes luego de su interacción con la materia, ponen en movimiento a partículas con carga que serán las que finalmente produzcan ionizaciones.

La *radiación corpuscular* corresponde a partículas tales como electrones, protones, partículas α , iones pesados con carga y neutrones. Los electrones son partículas pequeñas con carga negativa. Los protones son partículas con carga positiva y una masa mil veces mayor que la del electrón. Las partículas α son núcleos de helio, es decir están formadas por dos protones y dos neutrones y en consecuencia tienen una carga neta positiva. Los neutrones son partículas sin carga eléctrica, con una masa similar a la del protón y pueden ser emitidas por fisión de isótopos radiactivos de elementos pesados.

La *radiación electromagnética* transporta energía a través de campos eléctricos y magnéticos oscilantes que viajan a la velocidad de la luz c (3×10^8 m/s). Sin embargo, en algunos casos, este tipo de radiación puede comportarse como un paquete discreto de energía llamado fotón o

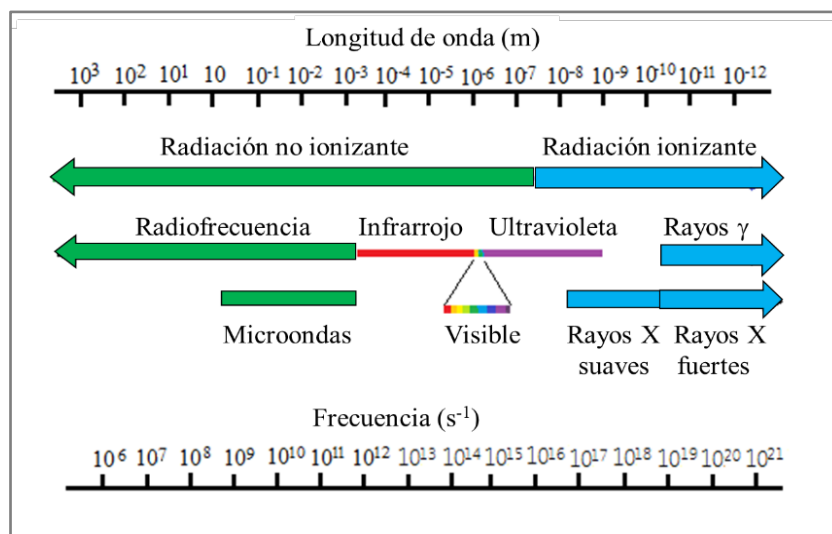
cuanto de energía. La energía de cada cuanto, medida en Joules, es igual a la frecuencia ν multiplicada por la constante de Planck, h

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda}$$

Donde λ corresponde a la longitud de onda.

La cantidad de energía por fotón queda definida por la posición en el espectro electromagnético (Figura 2.1).

Figura 2.1. Espectro Electromagnético. Muestra la relación entre la longitud de onda (m) y la frecuencia (s^{-1}).



Se puede observar que los fotones de rayos X o gamma están en el extremo del espectro, caracterizado por presentar alta energía, la cual es suficiente para desplazar un electrón de su orbital atómico, produciendo un átomo con carga neta positiva. La energía de enlace para electrones ronda en los 10 eV. Los fotones con energías mayores a este valor son considerados como radiación ionizante, mientras que los que tienen energías inferiores son no ionizantes pero pueden causar excitación.

Dentro del espectro electromagnético, los rayos X y gamma pueden ser considerados particularmente, desde el punto de vista de sus aplicaciones clínicas, debido a que presentan propiedades físicas similares, a pesar de que se producen por mecanismos diferentes. Los rayos X se generan de dos formas diferentes. Una está dada por los rayos X de *Bremsstrahlung* o radiación de frenado y el otro por los rayos X característicos. Los primeros son el resultado de la interacción entre electrones de alta velocidad con los núcleos atómicos. El electrón, mientras va pasando cerca de un núcleo, es desviado de su camino debido a la acción de la fuerza de atracción coulombiana que le ejerce el núcleo, y pierde energía en forma de radiación de frenado. El segundo proceso, ocurre cuando un electrón interactúa con los átomos del material, eyectando un electrón orbital de las capas orbitales K, L o M, dejando al átomo en un estado ionizado. Cuando

se crea esa vacante en la órbita, es ocupada por un electrón perteneciente a una órbita más externa. Al hacerlo, emite energía en forma de radiación electromagnética, llamada *radiación característica*, ya que es particular de los átomos que componen el material y de las órbitas entre las que ocurre el proceso. En cuanto a los rayos gamma, su emisión está originada por los cambios de energía dentro de un núcleo. En general ocurren luego de que éste emite una partícula alfa o beta, haciendo que quede en un estado excitado de energía, la cual luego se pierde por emisión de radiación electromagnética de alta frecuencia.

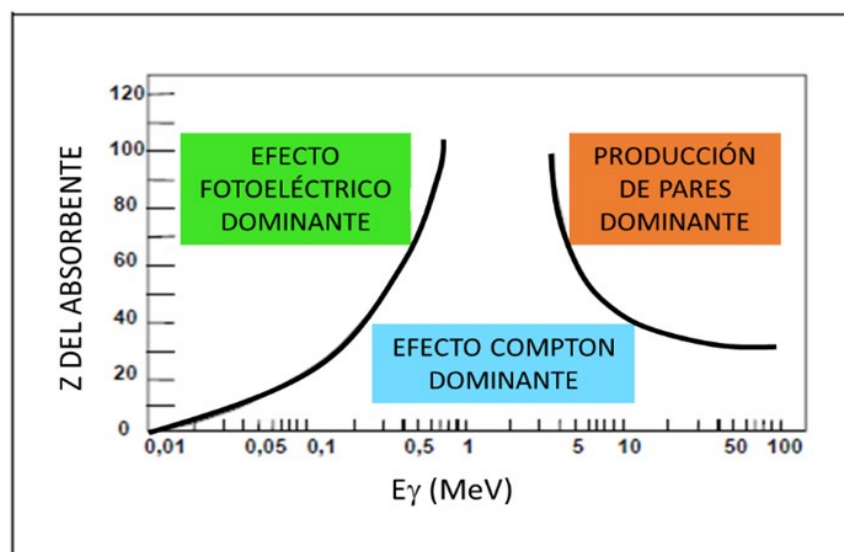
Mecanismos de interacción de la radiación con la materia

Comprender cómo interactúan las radiaciones físicamente con la materia, es importante porque es el primer paso en la secuencia de acontecimientos que finalmente conducirán a diversos cambios biológicos.

Interacción de la radiación electromagnética con la materia

Existen cinco tipos diferentes de interacciones de la radiación electromagnética con la materia: la fotodesintegración, la dispersión coherente (o dispersión Rayleigh), el efecto fotoeléctrico, el efecto Compton y la producción de pares. En este capítulo se abordarán los tres últimos por ser los de mayor relevancia. Cada uno de ellos, predomina en determinado rango de energía de la radiación incidente, para un material dado. La Figura 2.2 muestra la importancia relativa de estos procesos en función de la energía de los fotones incidentes y del número atómico Z del material absorbente.

Figura 2.2



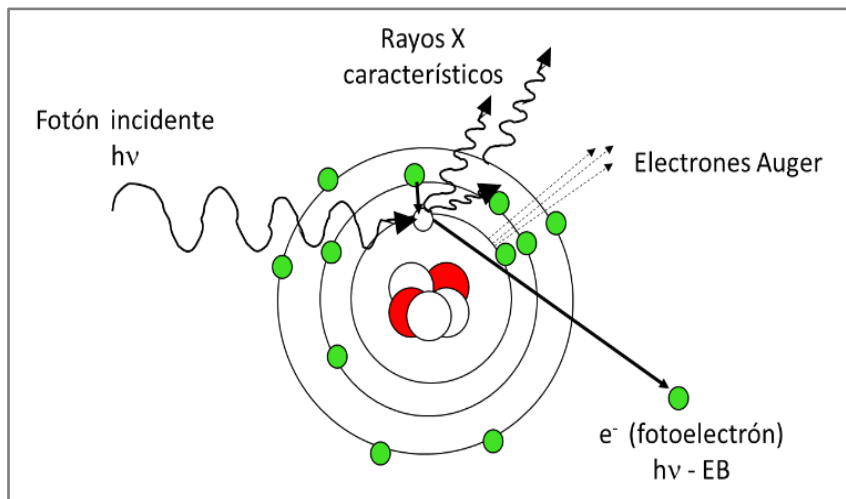
Nota. Importancia relativa de los tres principales mecanismos de interacción de fotones en función de la energía y el material absorbente

Efecto fotoeléctrico

Es un fenómeno en el cual un fotón interactúa con un átomo y eyecta uno de los electrones de un orbital atómico. En este proceso, la cantidad de energía $h\nu$ del fotón incidente se transfiere por completo al electrón. Luego de que el electrón es arrancado del átomo, queda una vacante en ese orbital, dejando al átomo en un estado excitado. Esta vacante puede ser llenada por un electrón de un orbital más externo emitiendo un rayo X característico. También puede ocurrir la emisión de electrones Auger, los cuales son electrones monoenergéticos, producidos por la absorción interna de un rayo X característico (Figura 2.3).

Claramente, el efecto fotoeléctrico juega un papel muy importante en la causa de los efectos biológicos, debido a que el electrón eyectado interactúa cientos de veces dentro del tejido antes de detenerse completamente y en la mayoría de estas ocasiones, la energía impartida a otras moléculas biológicas será suficiente para ionizarlas.

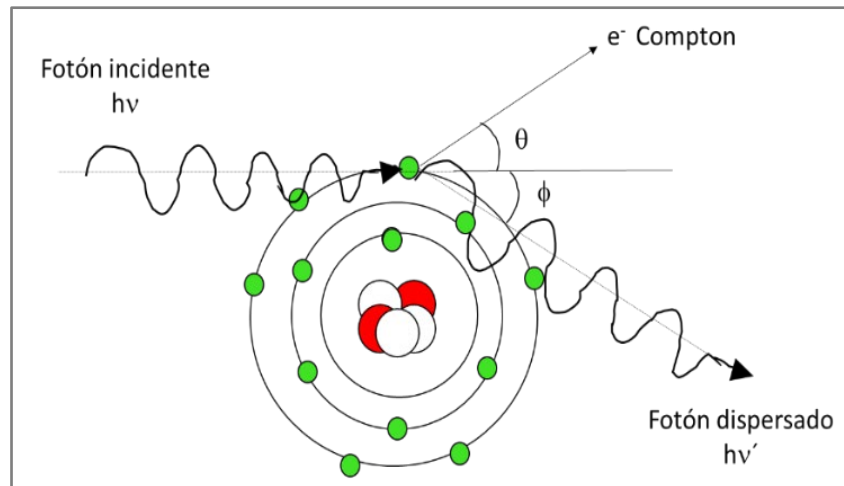
Figura 2.3. Esquema representativo del Efecto Fotoeléctrico con posterior emisión de rayos X característicos y electrones Auger.



Efecto Compton

A medida que la energía del fotón incidente aumenta, su longitud de onda decrece y hay una mayor probabilidad que interactúe con los electrones individuales y no con el átomo en su conjunto, como en el efecto fotoeléctrico. En este caso interactúa con un electrón del átomo como si se tratara de un electrón libre, lo cual significa que la energía de enlace del electrón es mucho menor que la energía del fotón incidente. Aquí el electrón recibe algo de la energía $h\nu_0$ que trae el fotón y es emitido formando un ángulo θ con la dirección del fotón incidente. El fotón queda con menor energía, $h\nu'$, y es dispersado formando un ángulo ϕ . Este fotón dispersado puede seguir interactuando en el material por efecto fotoeléctrico o efecto Compton (según la energía) o seguir sin interactuar (Figura 2.4)

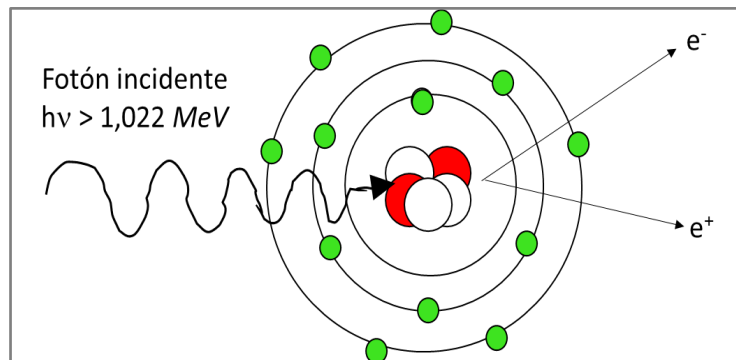
Figura 2.4. Esquema representativo del Efecto Compton.



Producción de Pares

En este mecanismo de interacción se absorbe toda la energía del fotón incidente y ocurre cuando esta energía alcanza el doble de la energía en reposo de los electrones (0,511 MeV). En este proceso el fotón interactúa fuertemente con el campo electromagnético de un núcleo atómico cediendo toda su energía en la creación de un par electrón (e^-) - positrón (e^+) (Figura 2.5). La producción de pares es un evento en el cual toda la energía es convertida en masa como predice la ecuación de Einstein $E = mc^2$. El proceso inverso tiene lugar cuando un positrón se combina con un electrón para producir dos fotones, tal proceso se denomina aniquilación.

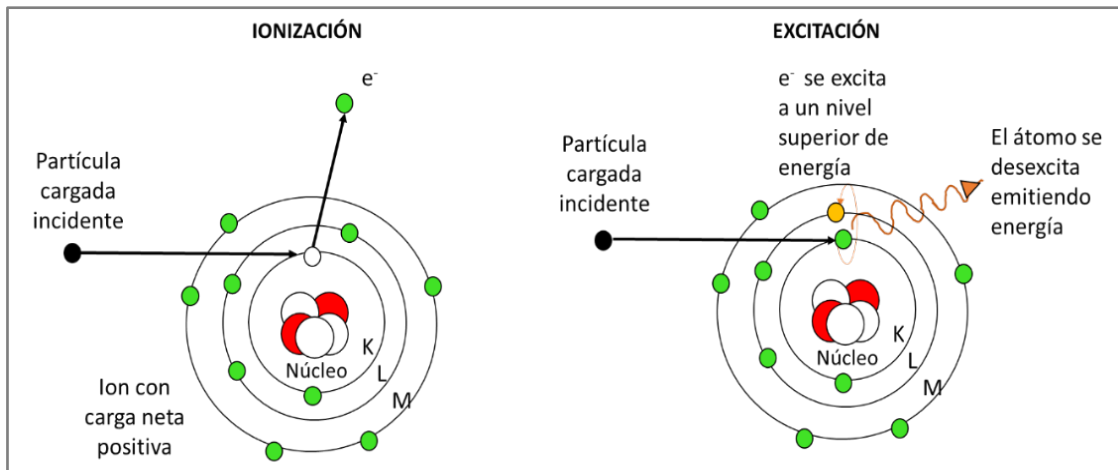
Figura 2.5. Esquema representativo de la Producción de pares.



Interacción de las partículas cargadas con la materia

Cuando las partículas cargadas atraviesan la materia van perdiendo su energía en sucesivos eventos de interacción que involucran a la ionización, excitación (Figura 2.6), ruptura de enlaces químicos (disociación) y producción de radiación de frenado. Cada uno de estos eventos, algunos más importantes que otros, representa un sitio potencial de daño químico y biológico.

Figura 2.6. Procesos de colisión inelástica de una partícula cargada con electrones del átomo.



A continuación se definen algunos conceptos importantes que son válidos tanto para la radiación electromagnética como para partículas.

Transferencia lineal de energía

La pérdida de energía de una partícula por unidad de longitud es conocida como transferencia lineal de energía o LET (del inglés *linear energy transfer*) y corresponde a la energía absorbida o transferida al medio por una partícula o radiación por unidad de trayectoria recorrida, en el medio con el que interactúa. Las radiaciones electromagnéticas tienen baja probabilidad de interacción con un átomo y los sucesos de ionización ocurren separadamente en tiempo y espacio, mientras que las radiaciones corpusculares, que tienen masa y carga, tienen más probabilidades de interacción con la materia. Consecuentemente, las radiaciones electromagnéticas tienen mayor penetración pero generan menor LET, en tanto que las corpusculares tienen un poder de penetración menor. Las partículas cargadas, al generar más iones y penetrar menos en los tejidos, producen un daño biológico mayor, a nivel superficial, en tanto que los rayos X o gamma, al generar pocos iones en su trayecto y penetrar hondamente, pueden producir lesiones simples pero de vital importancia, por ejemplo para el ADN. En este sentido, resulta apropiado definir los conceptos de ionización total, ionización específica y rango.

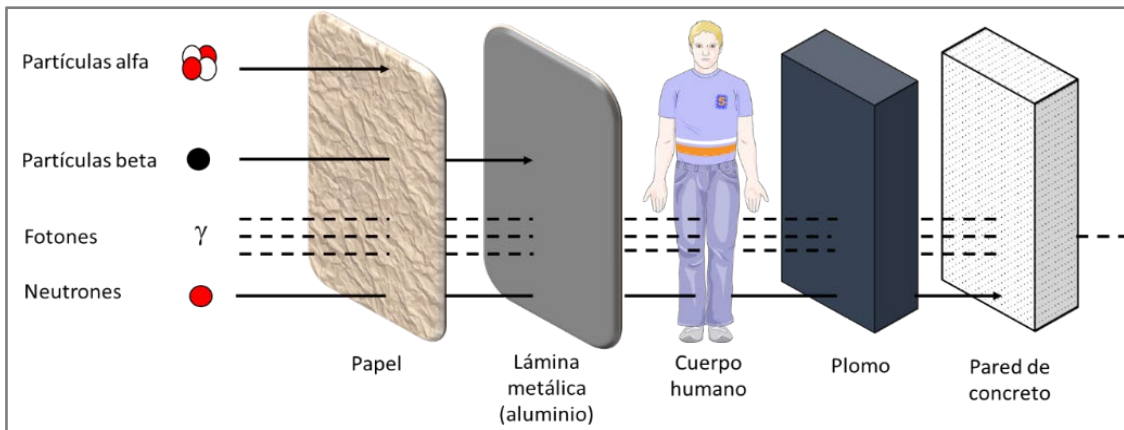
Ionización total y específica

La ionización total se define como el número de pares iónicos producidos por una radiación (partícula o fotones) a lo largo de su trayectoria, mientras que la ionización específica es el número de pares de iones que produce una radiación por unidad de longitud de trayectoria recorrida.

Rango

Se define como la distancia recorrida por las partículas hasta detenerse en un determinado medio. Esa distancia es el espesor máximo de penetración en dicho medio absorbente. Queda definido solo para partículas, dado que el rango o alcance para fotones es infinito (Figura 2.7).

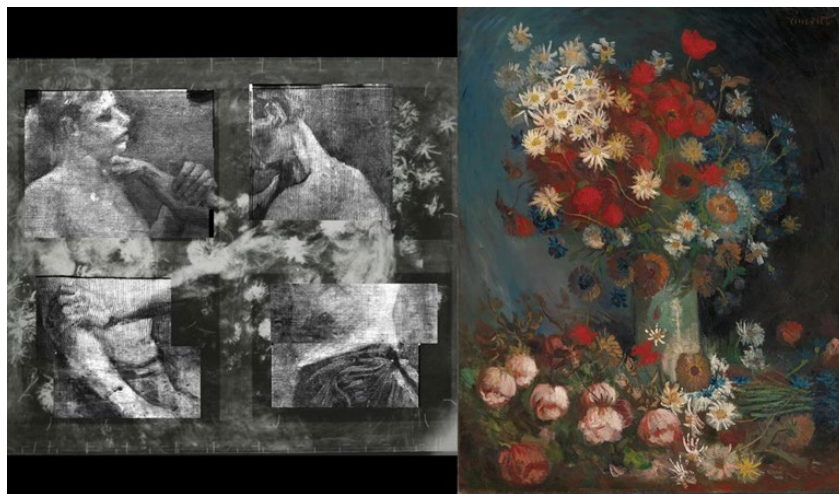
Figura 2.7. Poder de penetración de distintos tipos de radiación.



¿Lo esencial es invisible a los ojos?

El 8 de noviembre de 1895, en su laboratorio en Würzburg, Alemania, Wilhelm Conrad Roentgen estaba siendo testigo de un fenómeno que cambiaría la forma de ver las cosas no sólo en la medicina, sino en múltiples ámbitos tales como ingeniería, genética, aeronáutica, cuidado del medioambiente e inclusive en el estudio de piezas de arte. La capacidad de los rayos X de atravesar la materia depende de la energía de los propios rayos y de las propiedades y la densidad del material que se quiera analizar. Así, cuanto mayor sea el número atómico del elemento, habrá un número mayor de electrones que interactúen y atenúen la radiación impidiendo que ésta atraviese el material. Por eso, los rayos X pueden atravesar la piel formada por material orgánico bajo peso molecular como el carbono, pero son absorbidos en mayor medida por los huesos que tienen un alto contenido de calcio (Busch 2016)

Figura 2.8. Naturaleza y Arte.



Nota. Cuadro "Naturaleza muerta floral con amapolas y rosas" de Vincent Van Gogh (1886). Fotografía obtenida del sitio web oficial del Museo Kröller-Müller. El cuadro de la derecha se exhibía en el museo holandés Kröller-Müller y su autoría se atribuía a un artista anónimo, sin embargo, se sospechaba que podría tratarse de un cuadro de Vincent Van Gogh. La pintura fue sometida a rayos X en el 2012 y los expertos descubrieron que está pintado encima de otro cuadro en donde se aprecian dos hombres practicando lucha libre. En una de las tantas cartas que Van Gogh le escribió a su hermano Theo, le cuenta que durante su estancia en la Escuela de Bellas Artes de Amberes en Bélgica, había retratado a dos hombres peleando con el torso desnudo (Museo Kroller Müller, 2012).

Magnitudes y unidades radiológicas

Los cambios químicos a nivel atómico y molecular producidos por la radiación ionizante son los acontecimientos fundamentales que conducen al daño por radiación en los tejidos. Para poder evaluar estos efectos, es esencial poder cuantificar dicha radiación, para lo cual recurrimos en este capítulo a la definición de los conceptos pertinentes. Durante la realización del primer Congreso Nacional de Radiología, realizado en Londres en 1925 se fundó la Comisión Internacional de Mediciones y Unidades de Radiación (ICRU, sigla en inglés), cuya función ha sido definir unidades y magnitudes de radiación. De manera conjunta con este organismo trabaja la Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP, sigla en inglés), creada durante el segundo Congreso Internacional de Radiología, en Estocolmo en 1928.

Dosis Absorbida, D

Es la magnitud física básica de dosis y se define como energía absorbida dE por unidad de masa dm . Es válida para cualquier tipo de radiación con o sin carga y para cualquier material

$$D = \frac{dE}{dm}$$

$$\text{Unidad: } \frac{J}{kg} = \text{Grey (Gy)}$$

Sin embargo, la dosis absorbida resulta insuficiente en términos de evaluar los efectos biológicos de una radiación incidente determinada, ya que no considera la distribución microscópica de la energía en un órgano particular. En referencia, y para los fines de la protección radiológica se ha definido la Dosis Equivalente en un órgano o tejido, H_T

Dosis Equivalente en un órgano o tejido, H_T

Se define como el producto de la dosis absorbida en el órgano o tejido D_T y el factor de ponderación de la radiación w_R

$$H_T = \sum_R w_R \cdot D_{T,R}$$

$$\text{Unidad: } \frac{J}{kg} = \text{Sievert (Sv)}$$

Para diferenciarla de la dosis absorbida, se nombra a la unidad con el nombre especial de Sievert (Sv). La suma se realiza para todos los tipos de radiación que estuviesen involucrados en la exposición. El factor w_R tiene en cuenta la probabilidad de las radiaciones de producir efectos estocásticos y depende del tipo y energía del campo de radiación incidente sobre la persona expuesta o del radioisótopo depositado internamente. En la tabla 1, se muestran los valores de w_R para distintos tipos de radiaciones.

Tabla 2.1. Factores de ponderación de la radiación*.

Tipo de radiación	w_R
Fotones de todas las energías	1
Electrones y muones, todas las energías	1
Protones y piones cargados	2
Partículas α , fragmentos de fisión, iones pesados	20

*Nota. * Adaptada de ICRP 103*

La exposición a la radiación de los diferentes órganos y tejidos corporales causa daños con distintas probabilidades y diferente gravedad. La combinación de probabilidad y gravedad recibe el nombre de “detrimento”. Para reflejar el detrimento combinado de efectos estocásticos debidos a las dosis equivalentes en todos los órganos y tejidos del cuerpo, se multiplica la dosis equivalente en cada órgano y tejido por un factor de ponderación del tejido, w_T , los cuales contemplan las variaciones en la sensibilidad a la radiación de los distintos órganos y tejidos para la inducción de esos efectos estocásticos. Al sumarse los resultados para todo el cuerpo, se obtiene la **dosis efectiva E**, la cual se define por medio de una doble sumatoria de los productos de la dosis absorbida en cada órgano $D_{T,R}$ por los correspondientes factores de ponderación.

$$E = \sum_T w_T \cdot H_T = \sum_T w_T \sum_R w_R \cdot D_{T,R}$$

$$\text{Unidad: } \frac{J}{kg} = Sv$$

$D_{T,R}$ indica la dosis absorbida en el órgano o tejido T debida a la radiación del tipo R .

Los valores de w_T se indican en la Tabla 2. Los mismos se han elegido de forma tal que una dosis equivalente uniforme en todo el cuerpo de lugar a una dosis efectiva numéricamente igual a dicha dosis uniforme. Así la suma de los factores de ponderación de los diferentes tejidos es igual a la unidad.

Tabla 2.2. Factores de ponderación de los tejidos.

Tejido	w_T	$\sum w_T$
Medula ósea, colon, pulmón, estómago, mama, resto de los tejidos *	0,12	0,72
Gónadas	0,08	0,08
Vejiga, esófago, hígado, tiroides	0,04	0,16
Superficie del hueso, cerebro, glándulas salivales, piel	0,01	0,04

Nota. * Resto de los Tejidos: Adrenales, región extratorácica (ET), vesícula corazón, riñones, nódulos linfáticos, músculo, mucosa oral, páncreas, próstata, intestino delgado, bazo, timo, útero/cérvix. Adaptada de ICRP 103

En resumen, en su interacción con el material biológico la radiación ionizante va depositando una cierta cantidad de energía y ello posteriormente puede traducirse en un efecto biológico, el cual dependerá no sólo de la dosis absorbida sino del tipo de radiación y de la radiosensibilidad de los tejidos u órganos expuestos. En este sentido se definen magnitudes dosimétricas, como la dosis equivalente y la dosis efectiva, que tienen en cuenta estas características. Estas magnitudes permiten estimar el riesgo asociado a la exposición a la radiación ionizante y son uno de los pilares fundamentales en donde se asientan las bases de la protección radiológica con la finalidad de proteger a los seres humanos y al medio ambiente de los posibles efectos nocivos de la radiación ionizante.

Referencias

- Figura 2.1. Pollock P. Senderos ondulados. Breve historia del arte. Susie Hodge. Ed. BLUME.
- Bernier J, Hall EJ, Giaccia A. (2014). Radiation Oncology: a Century of Achievements. Nature review. Cancer 4(9):737-47
- Busch U. (2016). Wilhelm Conrad Roentgen. El descubrimiento de los rayos x y la creación de una nueva profesión médica. Revista Argentina de Radiología. 80(4):298-307
- Autoridad Regulatoria Nuclear. (2001). Radioprotection in the medical applications of the ionizing radiations (INIS-AR-C--188). Argentina: Autoridad Regulatoria Nuclear - Cámara de Instituciones de Diagnóstico Médico.
- Hodge, S. (2017). Breve historia del arte. Blume.
- International Atomic Energy Agency. (2014). Diagnostic Radiology Physics, Non-serial Publications, IAEA, Vienna
- ICRP. (2007). The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 103. Ann. ICRP 37 (2-4).

International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU). (2011). Fundamental Quantities and Units for Ionizing Radiation. ICRU Report 85.

Khan FM. (2003). The Physics of Radiation Therapy. Chapter 3. Production of X-Rays. Lippincott Williams & Wilkins, third edition.

Figura 2.8: Museo Koller Müller (2012). Recuperado el 14 de diciembre de 2023. <https://kroller-muller.nl/en/vincent-van-gogh-still-life-with-meadow-flowers-and-roses>

United Nations Scientific Committee on Effects of Atomic Radiations (UNSCEAR). (2008). Source and effects of ionizing radiation. New York: United Nations.

CAPÍTULO 3

Lesiones radioinducidas en el ADN y sus mecanismos de reparación

Alba Güerci

Figura 3.1. *El grito*. Edvard Munch.

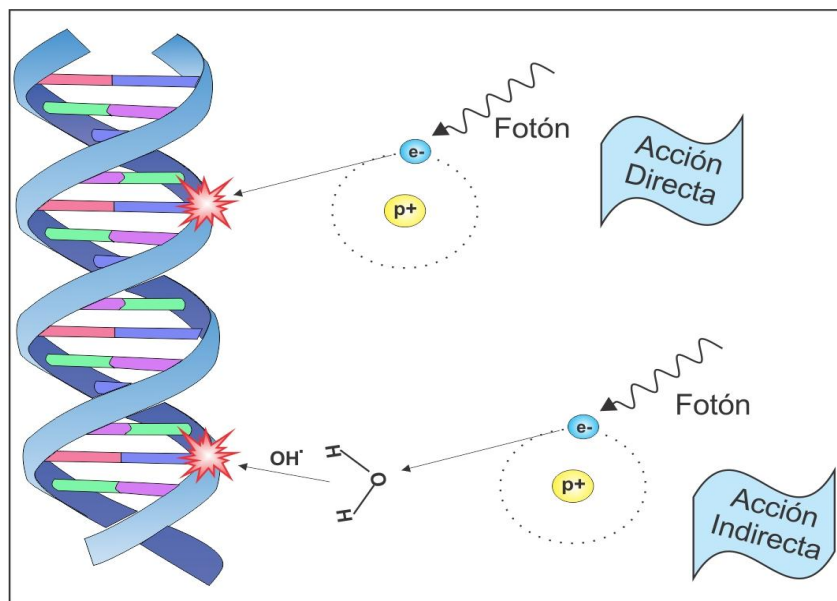


Nota. Fuente: <https://historia-arte.com/obras/el-grito>

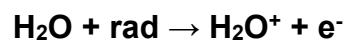
Mecanismos de acción de las radiaciones ionizantes

Los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes (RI) son el resultado de una serie de eventos que ocurren cuando este agente interactúa con la materia viva. Comienza con la ionización y excitación de átomos y moléculas, que se suceden con diversas reacciones químicas y finalmente llegan a un desenlace biológico determinado. Si bien las excitaciones no son importantes en la inducción de daño biológico, las ionizaciones pueden ocurrir en cualquier biomolécula, expulsando electrones y formando partículas reactivas que continuarán reaccionando y amplificando el impacto inicial. Así, en cualquiera de sus formas (fotones, neutrones o partículas cargadas), la radiación puede interactuar **directamente** con estructuras vitales específicas (ADN, proteínas, lípidos, etc.), causando su ionización o de manera **indirecta** a través de otras moléculas que luego transfieren la energía de ionización a esas moléculas blanco. Este último mecanismo se da por radicales libres, capaces de reaccionar con estructuras críticas y alterarlas (estos radicales son átomos o grupos de átomos con electrones desapareados y por eso muy reactivos). Si se considera el alto porcentaje de agua que compone a la célula (70 - 80%), se entiende que la mayor parte de la energía depositada por las radiaciones es absorbida por esta sustancia y se producen de manera muy rápida y en gran cantidad, radicales intermediarios (Figura 3.2).

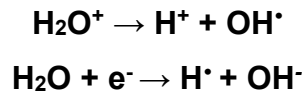
Figura 3.2. Mecanismos de acción directa e indirecta de las RI.



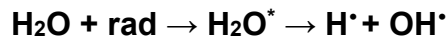
En primer lugar, la radiación que incide sobre las moléculas de agua puede producir un ion H_2O^+ y un electrón libre lento (acuoso), dado que casi toda la energía se ha invertido en arrancarlo de la molécula.



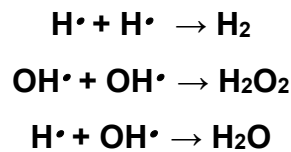
El ion catión H_2O^+ es muy inestable y reactivo. Rápidamente se descompone en un H^+ y en un radical OH^\bullet . El electrón acuoso, puede reaccionar con otras moléculas orgánicas o con una segunda molécula de agua produciendo radicales H^\bullet e iones hidroxilo OH^\bullet .



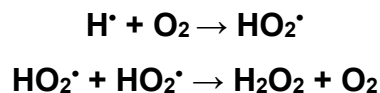
Los iones hidroxilo y protones libres, al tener cargas opuestas tenderán a atraerse y neutralizarse formando nuevamente agua. Los radicales H^\bullet y OH^\bullet neutros pero muy reactivos, tienden a generar enlaces y quitar átomos a otras moléculas, que podrían ser biológicamente funcionales, como las proteínas o los ácidos nucleicos. También hay una posibilidad más directa de formar radicales libres por *excitación* de la molécula de agua, que se disocia en radicales H^\bullet y OH^\bullet .



Los radicales pueden estar diferencialmente concentrados en zonas de alta densidad, a lo largo de la trayectoria de radiación y según su transferencia lineal de energía. En zonas internas, con mayor concentración de estas especies, se favorece la reacción y neutralización entre ellas:

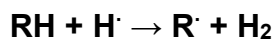
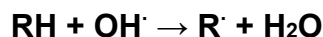


Otros radicales se propagan y si han sido generados en el núcleo pueden acceder al ADN. Recordemos que son inestables, con una vida media inferior a 1 mS, pero durante ese lapso, pueden difundir a través de la célula e interactuar en lugares distantes. Contienen un exceso de energía que puede ser transferida a otras moléculas para alterar enlaces y producir lesiones puntuales a cierta distancia del acontecimiento de ionización inicial. El radical libre H^\bullet también puede interactuar con el oxígeno molecular y formar un radical hidropéroxilo, que, interactuando entre sí, puede formar peróxido de hidrógeno:



En resumen, en el agua irradiada estarán presentes especies radicalarias (H^\bullet ; OH^\bullet y electrones acuosos) que difunden y reaccionan rápido y especies no radicalarias (H_2O_2 ; H_2 ; H^+). A medida que aumenta la LET (transferencia lineal de energía), disminuye el rendimiento de especies radicalarias y aumenta la producción de especies no radicalarias y también aparece una nueva especie reactiva: O_2^\bullet (radical superóxido). Todos estos agentes oxidantes pueden alterar

significativamente sustancias biológicas. Su interacción con moléculas orgánicas puede producir radicales libres orgánicos que implican remoción de hidrógeno según estas reacciones:



Todos los radicales pueden reaccionar con moléculas vecinas y producir radicales lipídicos o radicales sobre el ADN. En el caso de los lípidos, pueden ocurrir reacciones en cadena y alterar las membranas celulares.

Mientras la acción directa es el mecanismo prevalente para las radiaciones de alto LET, la radiolisis del agua constituye el mecanismo de acción principal para baja LET. No obstante, cabe recordar que el microambiente celular no es una simple solución acuosa. Involucra compuestos y enzimas que pueden secuestrar y mitigar el efecto de estas especies reactivas, como se describirá en el capítulo 5.

Como conclusión se destaca que, si bien el proceso de absorción de energía y ruptura de enlaces moleculares es inducido por la RI, también forma parte de muchos procesos biológicos, como reacciones metabólicas o condiciones patológicas, entre las que se encuentra el cáncer.

Lesiones en el ADN inducidas por radiaciones

Si nos centramos en un *blanco celular clave*, podemos decir que la radiación ionizante induce directa o indirectamente, más de un centenar de lesiones en el ADN. Provoca ionización y excitación de los diferentes componentes de esta molécula produciendo zonas químicamente inestables, que tienden a reaccionar rápidamente. La energía puesta en juego suele ser de tal magnitud que se pueden romper enlaces covalentes y producir rupturas de una o ambas cadenas del ADN. En adición, la acción indirecta de una partícula aumenta el estrés oxidativo sobre esta biomolécula. En tal sentido, se ha demostrado que muchas lesiones mutagénicas son producidas por la interacción de la cromatina con radicales OH^\cdot . Las 2/3 partes del daño al ADN se atribuyen a su interacción con esta especie, y por eso es considerada como la más dañina.

Si bien algunas lesiones del ADN son estables y ocasionan serias consecuencias, es posible que luego de exposiciones a dosis bajas de RI se restablezca rápida y eficazmente la estructura molecular. La mayoría de las lesiones pueden ser reparadas mediante un sistema coordinado de mecanismos celulares. Cuando este sistema falla y la **reparación es defectuosa** se instauran **mutaciones**. Asimismo, cuando hay rupturas en ambas cadenas o estén muy próximas, el punto clave es que haya suficiente espacio entre ellas para posibilitar el acceso a la maquinaria de reparación y que no se dificulte el proceso.

Por otra parte, es importante tener en cuenta el entorno celular donde se recibe la irradiación. Dado que el 60 - 70 % de las lesiones radioinducidas por baja LET son por acción indirecta, la presencia de altas concentraciones de secuestradores de radicales libres, reduce marcadamente

la generación de lesiones genotóxicas y por ende de mutaciones y aberraciones cromosómicas. Por tanto, las moléculas donantes de H, como las que contienen grupo sulfhidrilo (-SH), pueden neutralizar las especies reactivas y generar protección celular. Además, el daño radioinducido también dependerá de la presencia de oxígeno, ávido secuestrador de reductores. El oxígeno sensibiliza a la célula por su unión con los radicales generados sobre el ADN. Al combinarse con ellos aumenta su vida media y fija el daño. Es un potente radiosensibilizador (aumenta el efecto de la irradiación). A baja LET, en anoxia, es necesario multiplicar la dosis de 2,5 a 3 veces para obtener el mismo efecto que en presencia de oxígeno. Se llama OER (del inglés *Oxygen Enhancement Ratio*) a la relación entre las dosis necesarias para obtener el mismo efecto, según condiciones de anoxia o de oxigenación normal. De esta manera, la instauración de radicales sobre la desoxirribosa o bases nitrogenadas, son el resultado de la competencia entre el oxígeno y la presencia de radioprotectores celulares (por ejemplo, grupos tioles).

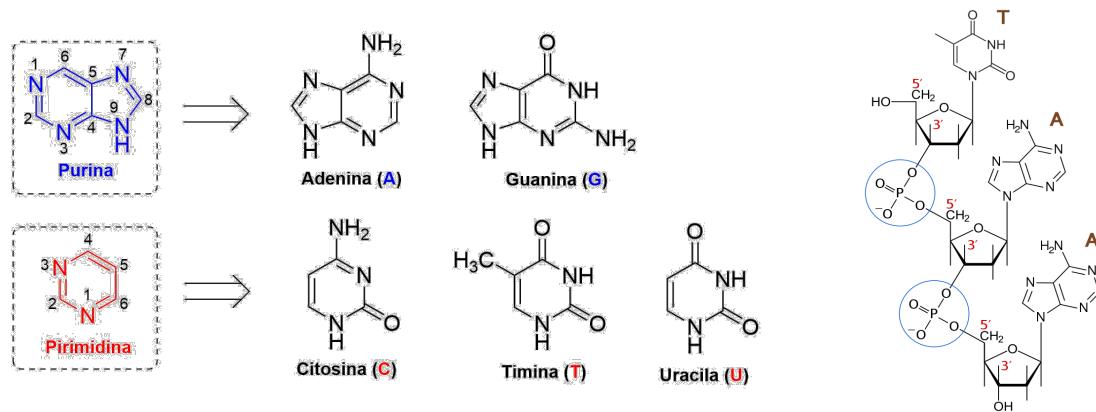
A continuación, se describen las diferentes lesiones inducidas por la RI sobre el ADN.

Tabla 1. 3. Clase y frecuencia de daños endógenos y radioinducidos al ADN.

Clase de Lesión al ADN/célula diploide/día	Endógenas (meta-bólicas)	Inducida por Gy (Radicales Libres)
Ruptura de Simple Cadena	55000	1000
Pérdida de bases púricas	12000	0
Pérdida de bases pirimidínicas	600	0
Daño de Bases (desaminaciones, oxidaciones, etc)	> 4000	2500 - 3000
Destrucción de Azúcares (oxidación)	?	1200
Ruptura de Doble Cadena	8	40
Lesiones Múltiples Localizadas	?	3.65
Entrecruzamientos ADN-ADN	8	30
Entrecruzamientos ADN-Proteína	pocos	140

Daño de Bases

Las radiaciones ionizantes oxidan las bases nitrogenadas mediante el ataque de los radicales OH[•]. El doble enlace del C5-C6 de las purinas y pirimidinas es el sitio de reacción, generando productos e intermediarios de vida corta. En relación a esta saturación de los anillos, puede suceder desestabilización del enlace N-glicosídico y la formación de un residuo de desoxirribosa abásico (sitios apurínicos o apirimidínicos). Además, la pérdida de bases también resulta de la hidrólisis espontánea del enlace N-glicosídico.

Figura 3.3. Izquierda: Bases Nitrogenadas (1). Derecha: secuencia de tres nucleótidos (2)


Las bases pirimidínicas son más radiosensibles que las púricas. El orden decreciente de radiosensibilidad es: timina, citosina, adenina, guanina. Se estima que el daño de bases, considerando el secuestro de radicales libres, puede triplicar a las rupturas de simple cadena. Probablemente el oxidante más dañino es el radical OH^{\bullet} y uno de sus productos característicos es la 8-hidroxi guanina. Por otra parte, la acción directa de la RI puede expulsar un electrón de las posiciones C5 - C6 insaturadas y el catión resultante puede reaccionar posteriormente con un ion hidroxilo. No obstante, el nivel espontáneo de fondo inflige mayor número de sitios dañados en el ADN, que los ocasionados por radicales libres de la RI (ver tabla 1.3).

Rupturas de cadena simple (SSB: *del inglés Single Strand Break*)

Son lesiones muy habituales producidas por la acción indirecta de la radiación. Se generan a nivel de la unión fosfodiéster entre el fosfato y la desoxirribosa, frecuentemente luego del desprendimiento del hidrógeno del azúcar por el ataque del radical OH^{\bullet} . Asimismo, por acción directa de la radiación, el sitio de daño puede ser la desoxirribosa. Se producen aproximadamente 1000 SSBs/célula de mamífero/Gy para radiación de bajo LET. Su número puede triplicarse en células oxigenadas. La frecuencia de formación de estas lesiones es lineal a la dosis y mayor para radiaciones de baja LET. En cuanto a su reparación, el proceso suele ser rápido, inferior a una hora y en general no tienen impacto sobre la letalidad.

Rupturas de cadena doble (DSB: *del inglés Double Strand Break*)

Estas lesiones implican la discontinuidad de las dos cadenas del ADN a pocos nucleótidos de distancia una de otra. A pesar que se producen normalmente en los linfocitos durante la formación de anticuerpos, es el daño de mayor trascendencia biológica inducido por la radiación. Si bien en su formación están involucrados tanto los mecanismos de acción directa como indirecta, los primeros son más distintivos para la radiación de alta LET. Asimismo, pueden formarse por

la acción de un OH^{*} sobre la desoxirribosa, con transferencia del radical sobre la segunda cadena, o por el ataque de varios radicales OH^{*}, formados sobre la trayectoria de la misma partícula o en sitios vecinos a ella. Su formación sigue un arreglo lineal a la dosis, indicando que son generadas por haces simples de radiación.

En cuanto a su significancia genotóxica, estas lesiones son las más notables, en tanto pueden conducir a mutaciones, deleciones (pérdida de material) y cuando interactúan entre ellas, aberraciones cromosómicas severas, pudiendo derivar en transformación celular, carcinogénesis o letalidad. En términos de su reparación, no sólo debe considerarse la brecha originada, sino también el tipo de extremos formados. En relación, la mayoría de las rupturas radioinducidas presentan terminales inusuales o dañados, que evitan su reparación a través de mecanismos simples de ligación.

Destrucción de Azúcares

El radical OH^{*} también sustrae átomos de hidrógeno de la desoxirribosa y puede producir su liberación y la formación de una SSB. También puede modificar el azúcar generando un sitio abásico. No obstante, estos cambios suelen ser poco frecuentes.

Entrecruzamientos

El ataque del OH^{*} provoca la formación de entrecruzamientos intra e intercadenas del ADN y entre ADN y proteínas. Su frecuencia es la quinta parte que la de SSBs.

Daños Múltiples Localizados (DML)

Estos cambios también conocidos como lesiones agrupadas, consisten en conjuntos de rupturas de las cadenas del ADN, asociados a daño oxidativo de las bases nitrogenadas, dispuestos sobre una distancia de 10 a 20 nucleótidos. Por ejemplo, sitios abásicos y SSBs en una o dos vueltas de la hélice que han sido generados por una sola trayectoria de radiación. Estas lesiones pueden producirse con dosis bajas de radiación tanto de alta como baja LET y dependen de la densidad de ionización. Dada su complejidad son difíciles de reparar. En principio son letales, pero algunas pueden ser mutagénicas y ligadas a inestabilidad genómica y cáncer. Mientras que el número de lesiones aisladas para una dosis letal es del orden de 10^5 a 10^6 , el correspondiente a DML es menor a 100, lo cual indica una mayor eficacia biológica.

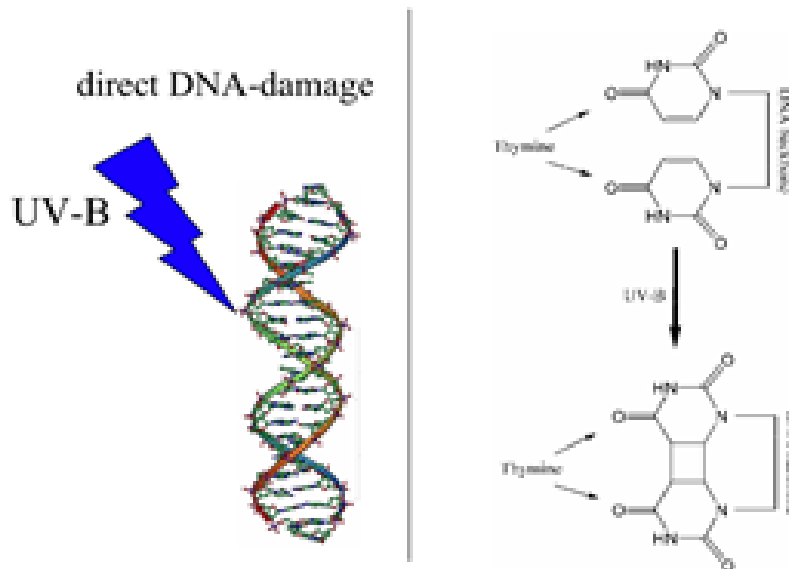
En términos de mayor significancia, las DSBs y DML son las lesiones responsables de los efectos deletéreos de las radiaciones, dado que son los daños más complejos para resolver. No obstante, cabe mencionar que para radiaciones de bajo LET, la presencia de secuestradores de

OH[•] en concentraciones altas, reducen a más de la mitad la producción de DSBs, SSBs, y consecuentemente las mutaciones, aberraciones cromosómicas y muerte celular.

Dímeros de Pirimidina

Las **radiaciones ultravioletas** (UV) producen lesiones particulares en el ADN. Algunas son similares a las de las RI: modificaciones y daños oxidativos de bases, SSBs DSBs y entrecruzamientos. Por otra parte, las UV de baja longitud de onda UVC (220 - 280 nm) y UVB (280 - 320 nm), se absorben específicamente por las bases nitrogenadas y puede provocar la reacción entre dos timinas adyacentes de la misma hebra. Así se forma a partir de sus dobles enlaces anulares, un sistema tricíclico con un anillo de ciclobutano. Esta lesión característica se conoce como **dímero de timina** e impide el apareamiento complementario con las adeninas, originando una estructura incompatible con el giro de la doble hélice y paralizando la replicación, dado que la polimerasa no puede reconocer esta estructura (en estos dímeros de pirimidina, se establecen enlaces covalentes).

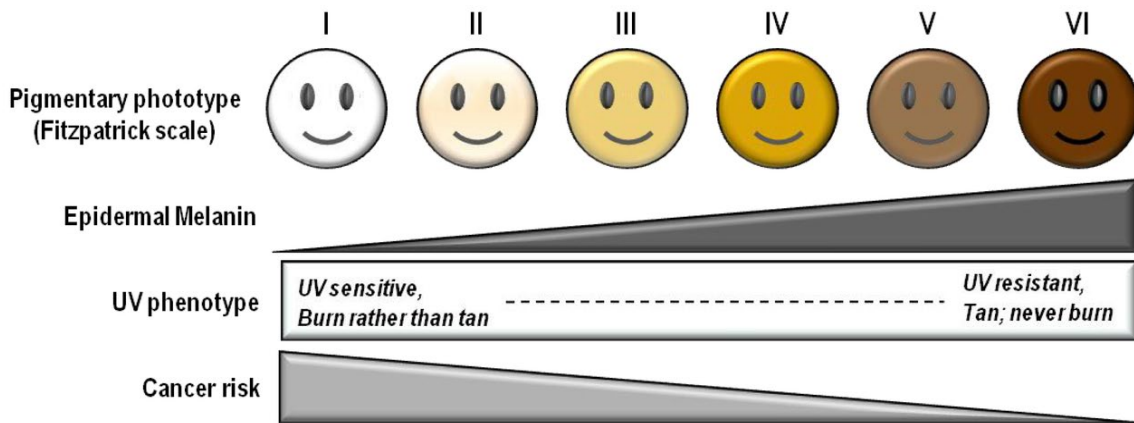
Figura 3.4. Formación de un dímero de pirimidina por acción de la radiación UV.



Nota. (Gerriet41, Public domain, via Wikimedia Commons)

Como este tipo de radiación no tiene tanta penetración, generalmente induce sólo lesiones en la piel, que responden a efectos tempranos por exposición al sol, como eritemas, envejecimiento e inducción de cáncer (de tipo baso y espinocelular). Las personas de piel clara con niveles bajos de melanina en la epidermis muestran un fenotipo sensible a los rayos UV, que tiende a quemarse en lugar de broncearse después de la exposición.

Figura 3.5. Influencia de la pigmentación en el riesgo de cáncer de piel.



Nota. (John D'Orazio, Stuart Jarrett, Alexandra Amaro-Ortiz and Timothy Scott, CC BY 3.0, via Wikimedia Commons)

Según lo expuesto y lo que conocemos de cursos previos, entendemos que el ADN es una molécula preciosa. Codifica información vital sobre el contenido y la función celular. Sólo hay dos copias de cada cromosoma en la célula y una vez que se pierde la secuencia, no es posible reemplazarla. La naturaleza insustituible del ADN lo distingue de otras moléculas celulares y lo convierte en un objetivo crítico para el deterioro relacionado con la edad y la acción de agentes ambientales. Si bien hay que tener presente que muchos de estos daños pueden ser estables o repararse incorrectamente con serias consecuencias biológicas, también hay que considerar que tanto las lesiones espontáneas o inducidas sobre el ADN, son plausibles de reparación. A ello nos abocaremos en el siguiente punto.

Mecanismos de reparación del ADN

Con tres billones de pares de bases, el genoma humano es atacado de manera constante por mutágenos endógenos y ambientales (ej. RI). Dado que el mantenimiento de su integridad es esencial para la vida de la célula, los sistemas biológicos han evolucionado gracias a componentes que permiten detectar y reparar los daños que se producen en él. Existen varios sistemas enzimáticos, desde simples a complejos, que posibilitan la reparación de lesiones del ADN y cobran significancia para la supervivencia celular. De esta manera, hay un control entre el número de errores que suceden y los que se pueden corregir. Mientras que los mecanismos eficientes resultan en una baja tasa de mutación, su ineficacia lleva al aumento de la inestabilidad genética y en situaciones extremas, cuando suceden mutaciones en enzimas de reparación, se presenta hipersensibilidad a agentes genotóxicos y cáncer.

Estos sistemas enzimáticos, se fueron gestando desde las primeras formas de vida por la necesidad de resguardar al genoma y se han conservado a lo largo de las distintas especies. El estudio en bacterias, levaduras, roedores y desórdenes humanos, ha posibilitado comprender que la reparación de distintas lesiones implica especificidad en su reconocimiento y eliminación,

y que también hay mecanismos globales para familias de lesiones. Asimismo, se observó que estos sistemas pueden diferir en la fidelidad de la reparación; es decir el grado en el cual son capaces de restaurar la secuencia salvaje. Si bien la mayoría liberan a la célula de errores (y no implican mutaciones), otros le posibilitan sobrevivir con ellos. Por ejemplo, ciertos daños pueden ser ignorados por las polimerasas, que continúan su proceso aún con el riesgo de desencadenar ciertos cambios. Por otra parte, hay vías reparativas para el daño mitocondrial, otras para daño nuclear y algunas que actúan sobre ambos genomas. También hay sistemas abocados al genoma transcripcionalmente activo, que evitan la interrupción de la actividad celular dependiente de esas zonas.

Figura 3.6. El Premio Nobel de Química 2015 fue otorgado conjuntamente a Aziz Sancar, Paul Modrich y Tomas Lindahl, por sus estudios en los mecanismos de la reparación del ADN.



Nota. Holger Motzkau, CC BY-SA 3.0, via Wikimedia Commons.

En nuestra especie, el proceso integral de reparación comprende aproximadamente 130 genes, entre los que se incluyen los de señalización y regulación. Abarca desde mecanismos multienzimáticos, a los resueltos por una sola enzima. En general, mientras las lesiones endógenas son simples de reconocer y se reparan correctamente, las inducidas suelen ser de mayor complejidad. No obstante, el daño por radiaciones puede ser reparado eficazmente, como se evidencia en la desaparición de las rupturas a las pocas horas de su generación. Sin embargo, como todo tiene un límite, el aumento de la densidad de las lesiones en un volumen reducido, puede impedir la acción coordinada de los distintos sistemas enzimáticos. Por eso, a dosis altas de radiación, se reduce la eficacia de estos mecanismos y se forman reordenamientos incorrectos o letales. Dado que el tiempo de reparación varía según la complejidad de la lesión y el sistema puesto en funcionamiento, observando la cinética de reparación se tiene una noción de la jerarquía del daño.

Antes de referir a algunas de estas vías moleculares, es importante aclarar que si bien la reparación representa al proceso por el cual se restaura la función de la macromolécula del ADN (por ejemplo, la replicación), no necesariamente indica que se recupera la función génica (proteína funcional). También son importantes los mecanismos de eliminación de mutágenos, que

evitan las lesiones antes que se produzcan (Capítulo 5). Así, podemos comprender que la **recuperación** celular, involucra un proceso amplio e integral, orientado al incremento de la sobrevivencia o disminución del daño tisular, cuando el tiempo permite que esto ocurra.

Si bien hay diversas vías de reparación del ADN, a continuación, se aludirá a los mecanismos centrales que participan en la resolución del daño genotóxico descripto oportunamente.

Reversión directa de la lesión

En algunos casos, la forma más inmediata de resolver una alteración, es la reversión directa de la transformación ocurrida. Un ejemplo es la reparación de los dímeros inducidos por la luz UV, que distorsionan la molécula del ADN e impide físicamente su replicación y transcripción. Esta lesión es reconocida y escindida por una enzima fotoliasa, mediante una reacción de transferencia electrónica iniciada por absorción de luz visible y regenerando las bases originales. Esta enzima tiene como coenzimas $FADH_2$ y un cromóforo que absorbe la luz e inicia la transferencia de electrones. En la oscuridad operan otros sistemas. Este mecanismo es primitivo y conservado en la escala zoológica, está presente en mamíferos marsupiales, pero no en los placentarios. Otro ejemplo lo constituye la reversión de bases modificadas por agentes alquilantes (ej. O6-metilguanina, O6-etilguanina). Los grupos alquilo pueden ser eliminados de la base por una alquiltransferasa, que los transfiere a un residuo de cisteína de su propio centro activo. Dado que la catálisis inactiva a la propia enzima y no puede regenerarse, se deben sintetizar nuevas moléculas para mantener el proceso reparador. Por lo tanto, el sistema se satura si hay un exceso de estas lesiones.

Figura 3.7. Proceso de fotorreactivación enzimática.

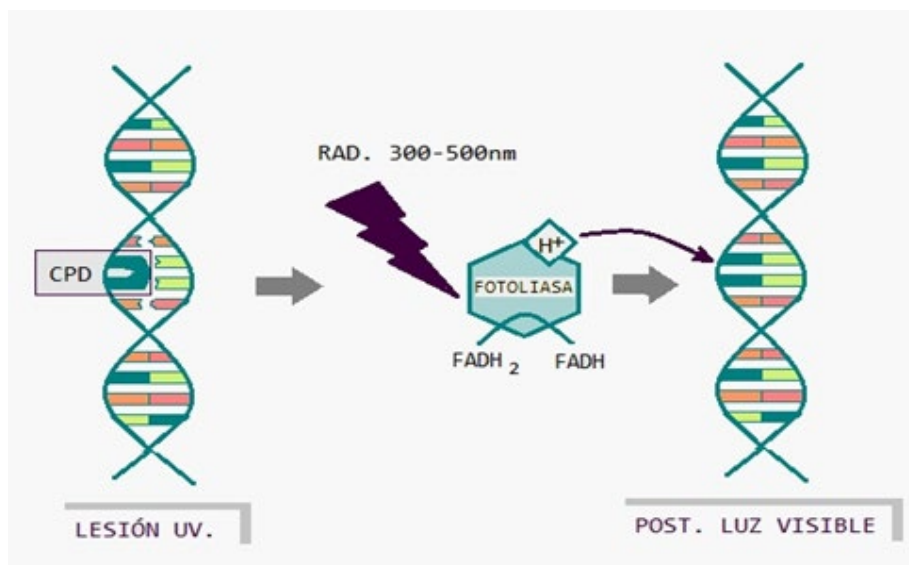
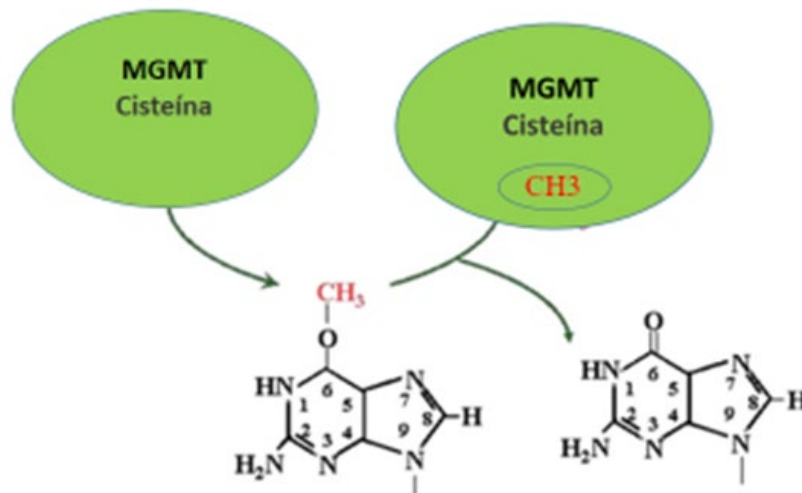


Figura 3.8. Proceso de reversión directa por alquil-transferasas.



Reparación por Escisión

Este sistema alude a la reparación de lesiones que se basan en la eliminación de bases nitrogenadas, nucleótidos o segmentos defectuosos de ADN y su reemplazo con la estructura correcta. Constituye un proceso complejo, con varios pasos y diversas proteínas. Se inicia mediante el reconocimiento de la lesión, que puede ser una base alterada o un cambio tridimensional. El proceso genérico se compone de una etapa previa característica y etapas avanzadas comunes. Siempre implica la síntesis de un fragmento de ADN.

Mecanismo general de reparación por escisión de nucleótidos

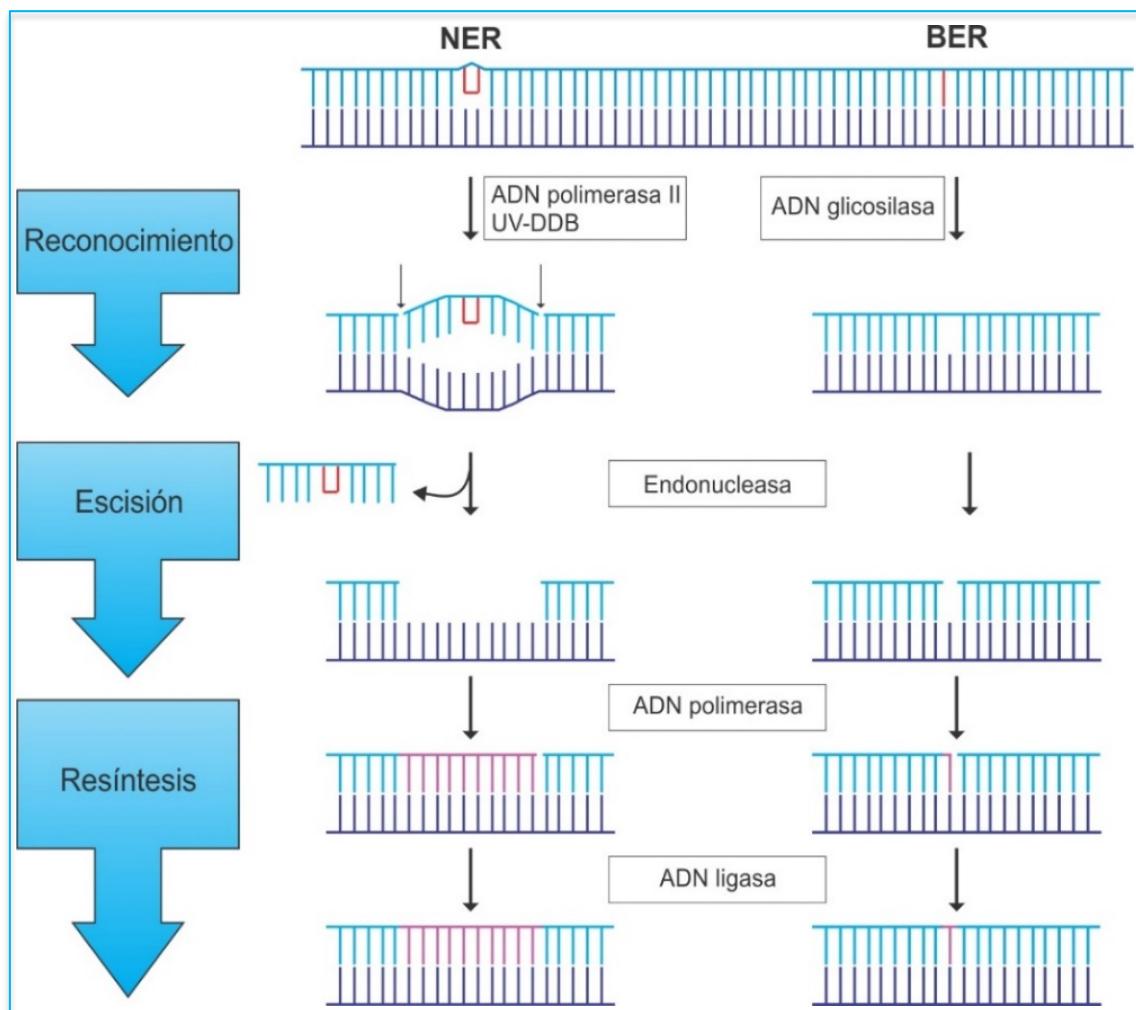
También conocido como “NER” (del inglés *Nucleotide Excision Repair*), es un proceso en el cual intervienen proteínas que reconocen diversas alteraciones, que suelen distorsionar la doble hélice (dímeros de timina, bases con sustituyentes voluminosos). En nuestra especie es una vía canónica para el daño genotóxico inducido por el humo del tabaco. Actúa en la reparación global del genoma y también en una actividad acoplada a la transcripción, que revisa y repara el ADN antes de ser transcrito.

Este mecanismo presenta unos 30 polipéptidos diferentes y comienza con el **reconocimiento** de la lesión por proteínas que componen el complejo de reparación. Posteriormente, durante la fase de **escisión**, un complejo con endonucleasas hidroliza los enlaces fosfodiéster de la hebra lesionada, a ambos lados de la lesión. Luego, una helicasa favorece la separación del oligonucleótido. Sigue la **síntesis restauradora**, donde una ADN polimerasa, por elongación del extremo 3'-OH formado en el corte, rellena el hueco generado. El uso de la otra cadena como molde asegura que se incorpore la secuencia correcta. Finalmente, una ADN ligasa une el extremo 3'-OH recién sintetizado con el extremo 5'P formado en el corte de la hebra original, cerrando la mella (fase de **sellado**). Este mecanismo actúa sobre la hebra molde del ADN, reparando las regiones que se transcriben activamente.

Reparación por escisión de bases

También conocido como “BER” (del inglés *Base Excision Repair*). A través de este mecanismo se aborda la resolución del daño de bases, reparando lesiones sutiles que al no distorsionar al ADN no pueden ser reconocidas por el sistema anterior. Puede corregir daños por hidrólisis (desaminación o pérdida de bases), oxidación por radicales libres y alquilaciones. En este proceso, durante la fase de escisión, no se elimina el nucleótido sino la base dañada o incorrecta. Una N-glicosilasa reconoce la base anómala o mal emparejada, e hidroliza el enlace N-glucosídico establecido con la desoxirribosa, formando un sitio abásico (hay N-glicosilasas específicas para las diferentes bases). Una vez generado el sitio abásico, se produce el corte de la hebra de ADN junto a esa desoxirribosa que no está unida a la base nitrogenada. Las endonucleasas AP (de apurínico - apirimidínico), hidrolizan el enlace fosfodiéster originando una mella. En eucariotas este corte genera un extremo 3'-OH, y a partir de este punto el mecanismo es el conocido, dando lugar a la acción de la ADN polimerasa, que elonga sustituyendo el nucleótido abásico y en ocasiones varios más (introduce la secuencia correcta por complementariedad con la hebra molde). En eucariotas hay dos versiones de este proceso: la reparación de un solo nucleótido y la reparación de un tramo más largo.

Figura 3.9. Esquemas de los mecanismos de reparación por escisión de nucleótidos y de bases



En adición, hay algunos mecanismos que actúan próximos a la ocurrencia de los cambios, evitando su perpetuación en la replicación. Por ejemplo, hay una enzima uracilo ADN glicosilasa, que recorre el ADN para reconocer estas bases extrañas (uracilo) en su estructura evitando su incorporación. Los uracilos pueden formarse por desaminación espontánea de la citosina. También hay otros procesos que corrigen errores ocurridos durante la replicación o errores que la impiden. Por ejemplo, **reparación de emparejamientos incorrectos**, donde se elimina la base errónea o el segmento que la contenga.

Mecanismos de reparación de rupturas de doble hebra

Estas lesiones si bien son menos frecuentes, son más letales, en tanto no reparadas llevan a la pérdida de fragmentos cromosómicos y son una amenaza para la vida celular. También son perjudiciales si están mal reparadas, dado que se desestabiliza el genoma y conducen a reordenamientos que pueden tener serias consecuencias. Este tipo de daño puede repararse mediante dos mecanismos principales: Recombinación Homóloga (RH) y Unión de Extremos No Homólogos (NHEJ del inglés: *Non-Homologous End Join*).

Recombinación Homóloga (RH)

En la reparación de DSB mediada RH, se utiliza la cromátida hermana como molde, para sintetizar la nueva cadena en el locus lesionado (Figura 3.10). El proceso está mediado por la proteína Rad51 con ayuda de otros miembros (Rad52, BCRA 1, BCRA 2). Dado que las cromátidas hermanas son idénticas entre sí, el daño del ADN se puede reparar fielmente sin consecuencias genéticas. Varios estudios han mostrado que la HR es más activa en las células madre embrionarias y en el desarrollo embrionario temprano, en comparación con las etapas tardías del desarrollo y las células somáticas.

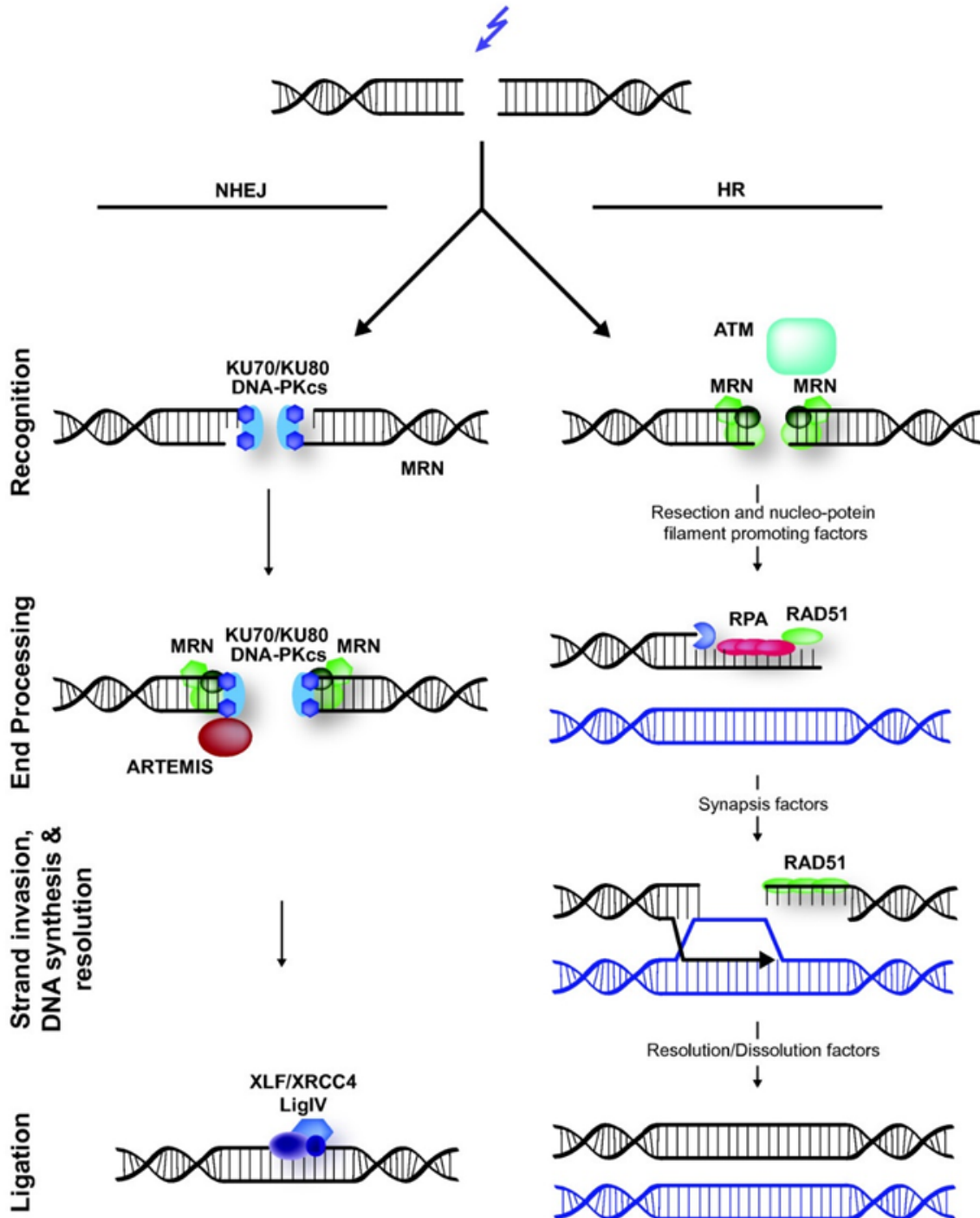
La falta de HR en células detenidas en G0 no es inesperada, ya que este proceso está restringido a la fase G2/M del ciclo celular, cuando está disponible una cromátida hermana. Si bien puede usarse un cromosoma homólogo como molde en células que no se dividen, esto es menos frecuente y se explica porque las cromátidas hermanas están muy próximas después de la replicación del ADN, en contraste con los homólogos que no están emparejados en la mitosis y pueden ser más difíciles de reunir. La expresión de la proteína Rad51 está regulada por el ciclo celular; se vuelve indetectable cuando las células entran en senescencia replicativa. Por lo tanto, la vía principal para la reparación de DSB en células G1/G0 de mamíferos es NHEJ.

Unión de Extremos No Homólogos (NHEJ)

En contraste con la vía anterior, esta ruta simplemente fusiona los dos extremos rotos, con poca o ninguna consideración por la homología de secuencia. NHEJ comienza con la unión del heterodímero Ku70 / Ku80 a los extremos rotos del ADN, facilitando el reclutamiento del complejo Artemis-DNA-PKcs, que procesa los extremos para que puedan ligarse. Posteriormente,

los huecos se rellenan por una ADN polimerasa y los extremos se unen covalentemente mediante el complejo XRCC4-ADN ligasa IV. Este mecanismo rara vez está libre de errores y conduce a deleciones o inserciones, aumentando la inestabilidad genómica y eventualmente promoviendo la carcinogénesis.

Figura 3.10. Esquema de los mecanismos de reparación de DSBs.



Nota. (Hannes Lans, Jurgen A Marteiijn and Wim Vermeulen, CC BY 2.0, via Wikimedia Commons).

Significancia de los mecanismos de reparación

Tanto el daño exógeno como endógeno al ADN desafía constantemente la estabilidad de nuestro genoma y aumenta la frecuencia de errores en la replicación del ADN. Por ende, la reparación eficiente del ADN es vital para mantener la permanencia del genoma y es tática la significancia de los problemas que pueden devenir cuando alguno de estos mecanismos no funciona. Hay diversos síndromes humanos que responden a ello y están asociados a cáncer y trastornos degenerativos. Por ejemplo, en Ataxia Telangiectasia se observa una mayor sensibilidad al daño inducido por rayos X y en Xeroderma pigmentosa, la deficiencia en alguno de los genes del sistema de reparación por escisión de nucleótidos, impide remover los dímeros de pirimidina. De esta manera, la acumulación de lesiones concluye con este tipo particular de cáncer de piel.

Asimismo, hay evidencia que las vías de reparación del ADN se vuelven menos eficientes con la edad, lo cual también conduce a la acumulación de mutaciones. Varios estudios han señalado la disminución de la expresión de las enzimas reparadoras o de su actividad, en relación al paso del tiempo. Un trabajo realizado en gemelos, donde se analizan 216 individuos de 40 a 77 años, demuestra que mientras la reparación de SSB se mantiene hasta la vejez, la respuesta a las DSB disminuye con la edad. Dado que la respuesta al daño del ADN es un proceso estrictamente controlado, es tentador especular que se vuelve menos eficiente o desregula con la edad. Sin embargo, como la mayoría de los síndromes de envejecimiento prematuro son causados por mutaciones en los genes de reparación del ADN, es razonable suponer que el envejecimiento normal es causado, en parte, por la disminución de la capacidad de reparación del ADN. La secuencia general de eventos puede ser la siguiente: las mutaciones espontáneas y los reordenamientos deterioran gradualmente la función de los genes involucrados en la respuesta al estrés y la reparación del ADN. La reparación del ADN se vuelve menos eficiente y más propensa a errores, lo que lleva a una acumulación en cascada de daños y mutaciones, que exacerban aún más el deterioro fisiológico relacionado con la edad. Sin duda alguna, por más que nos cueste aceptarlo estamos programados para ser simples mortales.

Por otro lado, el mecanismo de reparación del ADN en sí, no es perfecto. Las mutaciones proporcionan material para la selección natural y adaptación. En la naturaleza, los organismos no viven indefinidamente y a menudo sucumben por la depredación o accidentes, antes de acumular suficientes mutaciones para mostrar envejecimiento. De esta manera, sin la existencia de ninguna presión para invertir en un sistema perfecto de reparación del ADN, este se volvió vulnerable. Las diferencias colosales en la esperanza de vida entre las especies animales, sugieren que existe un amplio espectro de cuán "imperfectos" pueden ser los mecanismos de mantenimiento del ADN.

Figura 3.11. *Anciano en pena (en las puertas de la eternidad).* Van Gogh.



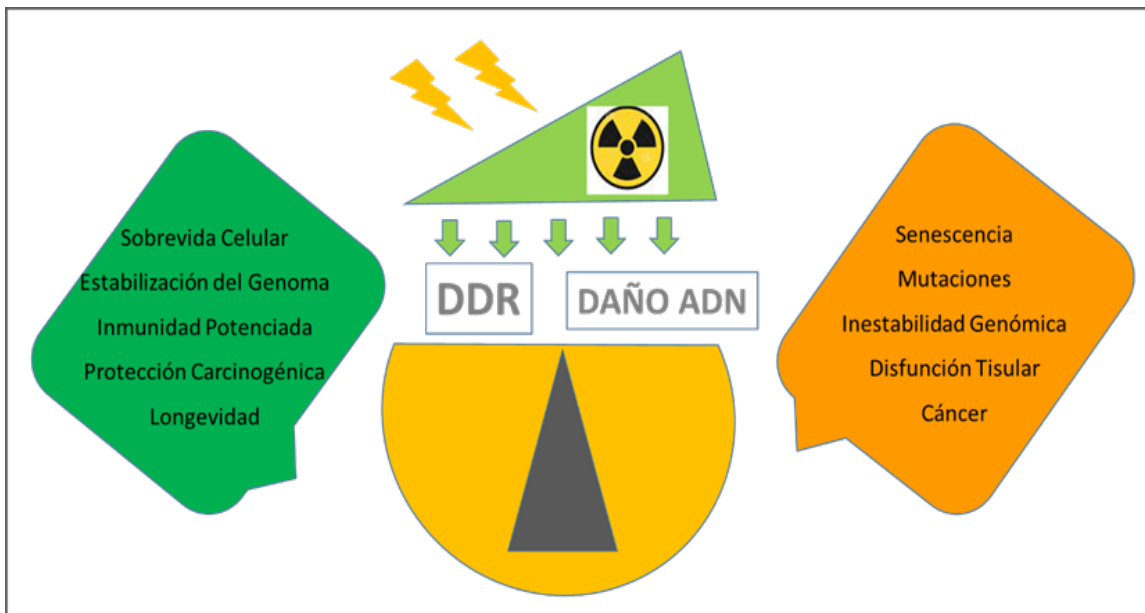
Nota. Fuente: <https://historia-arte.com/obras/anciano-en-pena-en-las-puertas-de-la-eternidad>

Respuesta al daño en el ADN: DDR

Como conclusión de este capítulo podemos pensar que luego de la exposición a RI, se genera una interacción dinámica entre la cantidad de lesiones inducidas en el ADN y la respuesta celular a ese daño, conocida como DDR (del inglés: DNA Damage Response) que determina el resultado biológico según el contexto celular y orgánico. Las lesiones iniciales del ADN causadas por la exposición a RI son proporcionales a la dosis y desencadenan la DDR; una cascada de señalización que detecta el daño y activa varios mecanismos de reparación del ADN, lleva a la detención del ciclo celular y si es necesario, a la activación de la defensa antioxidante y otras vías relevantes. La activación de la DDR y la ramificación hacia vías especializadas (p. ej., supervivencia frente a apoptosis o HR frente a NHEJ), depende de varios factores, como la dosis, la tasa de dosis, tipo de radiación, transferencia de energía lineal, tipo

de célula y microambiente celular. Luego de una exposición a dosis bajas, se supone que la DDR posibilita reparar la reducida cantidad de lesiones inducidas en el ADN y también, genera resistencia a las tensiones genotóxicas posteriores (respuesta radioadaptativa). Tal adaptación puede durar lo suficiente como para suprimir las tasas de mutación, inestabilidad genómica, senescencia/envejecimiento y carcinogénesis causadas por las dosis altas o especies reactivas de oxígeno generadas endógenamente, fenómeno conocido como hormesis. Por otra parte, si el daño radioinducido en el ADN es alto (por lo general, por encima de una cierta dosis umbral que puede variar según el tipo de célula/organismo), la capacidad de la DDR desencadenada es insuficiente para completar la reparación. Esto provoca consecuencias perjudiciales, como mutaciones, inestabilidad genómica, transformación neoplásica o disfunción tisular. La interacción entre el DDR y el daño del ADN es, por lo tanto, dinámica y depende de una multitud de factores determinados contextualmente.

Figura 3.12. Interacción entre el daño al ADN y la respuesta ejecutada para resolverlo.



Referencias

Figura 3.1. Bolaño E. (2017). El Grito (de Edvard Munch). <https://historia-arte.com/obras/el-grito>.

Figura 3.3. Izquierda: tarkin71. (2020). Purinas e pirimidinas e seus derivadas. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bases_nitrogenadas.png?uselang=es. Derecha: G3pro. (2010). Phosphodiester Bond.

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Phosphodiester_Bond_Diagram.svg.

Figura 3.4. Gerriet. (2008). Formación de un dímero de pirimidina por acción de la radiación UV. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Direct_DNA_damage.png.

Figura 3.5. (2013). D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A y Scott T. (2013). Influence of pigmentation on skin cancer risk.

https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Influence_of_pigmentation_on_skin_cancer_risk.png.

Figura 3.6. Motzkau. (2015). Los premios Nobel de Química 2015 en rueda de prensa en la Real Academia Sueca de Ciencias. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nobel_laureates_Chemistry_2015_0188.jpg.

Figura 3.7. BQUB17-MBernoy. (2017). Proceso de fotorreactivación enzimática. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fotorreactivaci%C3%B3n_enzim%C3%A1tica.jpg.

Figura 3.10. Lans H, Marteiijn JAy Vermeulen W. (2014). Reparación de rotura de doble hebra (DSB) en mamíferos. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:1756-8935-5-4-3-1.jpg>.

3.11. Calvo Santos M. (2018). Anciano en pena (en las puertas de la eternidad). Van Gogh. <https://historia-arte.com/obras/anciano-en-pena-en-las-puertas-de-la-eternidad>

Averbebeck D. (2008). Efecto de las Radiaciones sobre el AND. Tubiana M. Radiobiología. Tercera Edición (pp 79 – 123). Editorial Hermann/Medicina. París.

Creus A. (2006). Genotoxicidad, Mutagénesis y Carcinogénesis. Paz y Miño C, Creus A, Cabré O y Leone P. Genética Toxicológica y Carcinogénesis (pp 22 – 28). FUNDACYT-PUCE. Ecuador.

Gardés-Albert, M. (2008). Química de la Radiación. Tubiana M. Radiobiología. Tercera Edición. (pp 41 – 59). Editorial Hermann/Medicina. París.

Garm C, Moreno-Villanueva M, Bürkle A, Petersen I, Bohr VA, Christensen K, Stevnsner T. (2013). Age and gender effects on DNA strand break repair in peripheral blood mononuclear cells. Aging Cell. 12:58-66.

Gorbunova V, Seluanov A, Mao Z, Hine C. (2007). Changes in DNA repair during aging. Nucleic Acids Research. Vol 35. 22 (15): 7466–7474.

Hall, EJ and Giaccia AJ. (2012). Molecular Mechanisms of DNA and Chromosome Damage and Repair. Hall, EJ and Giaccia AJ. Radiobiology for the Radiologist. Seventh Edition (pp 13 – 24). Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.

Herráez A. (2012). Componentes de los Ácidos Nucleicos. Herráez A. Biología Molecular e Ingeniería Genética. Segunda Edición (pp11- 19). Barcelona. Editorial Elsevier.

International Atomic Energy Agency. IAEA. (2010). Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students, Training Course Series No. 42, Vienna.

Kabilan U, Graber TE, Alain T, Klovov D. (2020). Ionizing Radiation and Translation Control: A Link to Radiation Hormesis? International Journal of Molecular Sciences. 21(18):6650.

Lehnert, S. (2008). Biomolecular Action of Ionizing Radiation (pp 121-183). New York. Taylor Francis.

Lewin B. (2001). Recombinación y Reparación. Lewin B. Genes VII. Séptima Edición (pp 415 – 452). Madrid. España. Editorial Marbán.

Li Z, Zhang W, Chen Y, Guo W, Zhang J, Tang H, Xu Z, Zhang H, Tao Y, Wang F, Jiang Y, Sun FL, Mao Z. (2016). Impaired DNA double-strand break repair contributes to the age-associated rise of genomic instability in humans. Cell Death Differ. 23: 1765-1777.

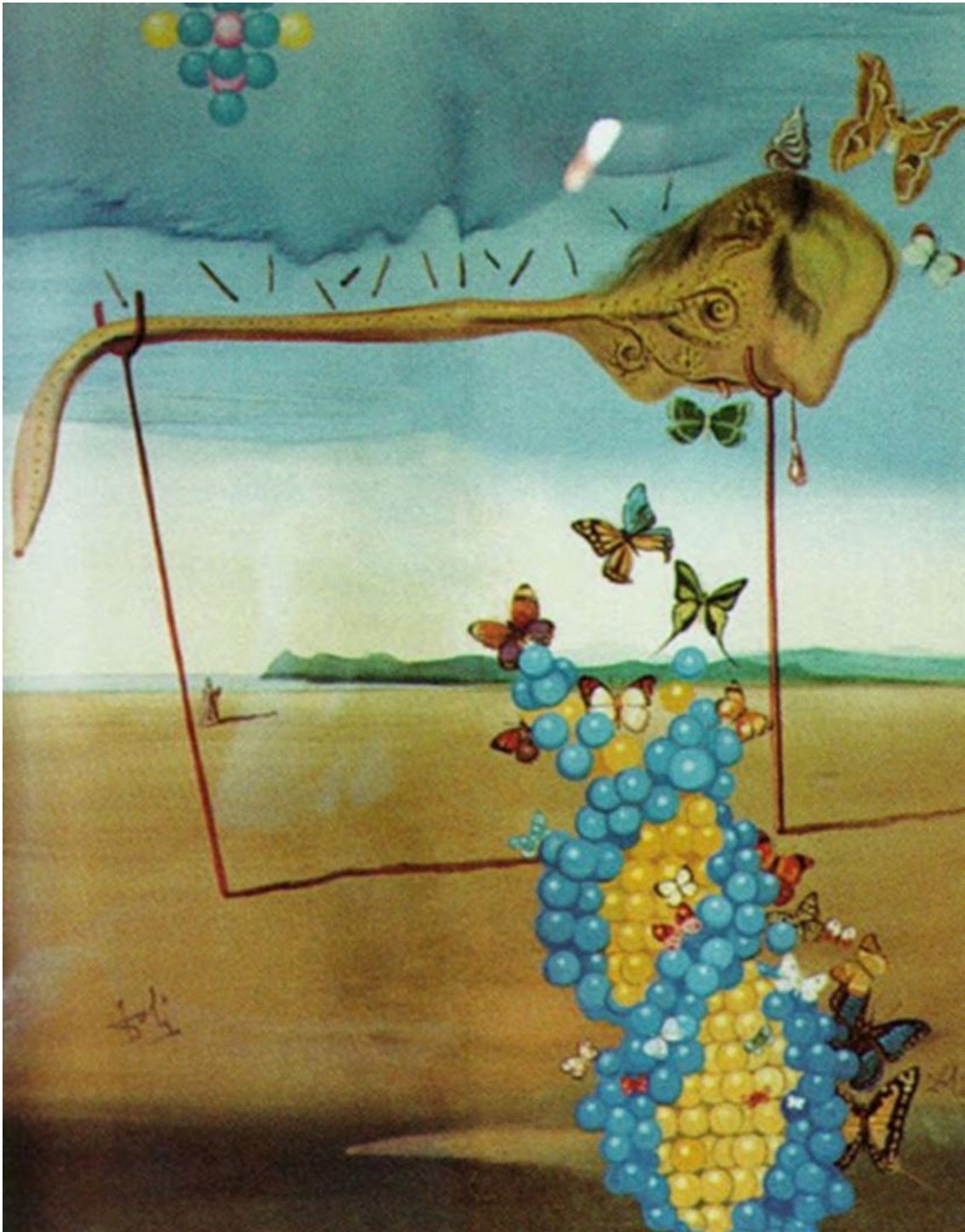
- Sinclair J. (1997). ADN, ARN y Proteínas. Cox TM y Sinclair J. *Biología Molecular en Medicina*. (pp 25 – 42). Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Torgovnick A y Schumacher B. (2015). DNA repair mechanisms in cancer development and therapy. *Frontiers in Genetics* 157 (6): 1-15.
- Xamena N. (1996). DNA: mutación, reparación y recombinación. Tamarín RH. *Principios de Genética* (pp: 459 – 490). Barcelona. Editorial Reverté.

CAPÍTULO 4

Fundamentos genotóxicos y citotóxicos de los efectos biológicos radioinducidos

Alba Güerci

Figura 4.1. Paisaje de mariposas. Salvador Dalí.



Nota. Sierra Valenti X. Un dermatólogo en el museo. Fuente: <http://xsierrav.blogspot.com/2017/02/dali-y-el-adn-i-la-doble-helice-de-la.html>

Mutaciones

Como hemos visto y es bien sabido, el ADN sufre diversos cambios o lesiones en su estructura por la interacción permanente con su entorno. Cuando estas modificaciones no pueden ser resueltas correctamente, se instauran en la molécula de forma permanente. Así se definen a las mutaciones, como un cambio **estable** en el ADN de una célula que se transmite a su descendencia. La estabilidad implica que se perpetúe durante la replicación del ADN en cada copia nueva y que permanezca en cada una de las células hijas.

En la diversidad de los organismos, las mutaciones junto con el proceso de recombinación meiótica, constituyen la principal fuente de variabilidad genética. En tal sentido, cobran un interés especial para procesos vitales tan significativos como la evolución de las especies, la identidad de un individuo, la dinámica u origen del proceso carcinogénico, el diagnóstico prenatal o el tratamiento de determinadas patologías.

Estos cambios, pueden originarse **espontáneamente** por errores durante la replicación del ADN o reacciones que ocurren sobre esta molécula, o también ser **inducidas** por agentes físicos, químicos o biológicos (mutágenos). Si bien en la replicación existe un mecanismo que permite corregir el 99,9 % de los errores que suceden, el número de divisiones celulares desarrolladas a lo largo de la vida de un individuo, hace significativo el número de estas posibles alteraciones. También las bases nitrogenadas pueden sufrir cambios espontáneos (desaminaciones oxidativas que interfieren con al apareamiento) o perderse por inestabilidad del enlace N-glicosídico. El propio metabolismo celular puede generar mutágenos endógenos (radicales libres) que reaccionan con las bases o nucleótidos, modificándolos. De esta manera, las mutaciones más frecuentes se generan debido a situaciones o a la acción de agentes del ambiente intracelular. Por otra parte, se han descrito los daños de las radiaciones ionizantes sobre el ADN, y se ha calificado a este agente como un mutágeno físico.

Las mutaciones pueden darse a lo largo de todo el genoma, tanto en secuencias codificantes como no codificantes y tanto en el genoma nuclear como en el mitocondrial (en este caso se heredan vía materna). Si bien se generan al azar y todas las zonas del genoma tienen la misma susceptibilidad a ellas, cuando ocurren en regiones codificantes desencadenan peores consecuencias. Dado que pueden afectar tanto a la secuencia que codifica la información, como a la secuencia que controla su expresión (reguladora), pueden alterar a la proteína, como así también a su síntesis. Asimismo, los cambios codificantes pueden afectar de diferente manera a la secuencia de aminoácidos, distinguiéndose así entre mutaciones silenciosas y no silenciosas.

Mutaciones Silentes, Silenciosas o neutrales: no se detectan fenotípicamente y por ende no están sujetas a ventajas o desventajas evolutivas, ni influyen en la susceptibilidad frente a enfermedades, pero sí pueden originar diversidad genética a nivel poblacional (variantes polimórficas).

9



Mutaciones NO silenciosas: el cambio en la secuencia de nucleótidos afecta a la secuencia de la proteína, en tanto codifica aminoácidos diferentes. Según como perturbe la función de la proteína pueden ser beneficiosas (menos del 1 %) o deletéreas.

En cuanto al tipo de célula, las mutaciones pueden ocurrir tanto en células germinales, como somáticas. En el primer caso, se producen durante la gametogénesis y pueden transmitirse a todas las células descendientes del cigoto, formado a partir de la unión de ese gameto. Su importancia está dada según la función celular que afecte. Si es esencial, puede derivar en la inviabilidad del organismo y el aborto. Sino, provocar una enfermedad hereditaria. No obstante, algunas mutaciones pueden ser beneficiosas. En general estos cambios son infrecuentes y la mayoría de ellos recesivos. De ser letales no se detectan pues no alcanzan la concepción.

Por el contrario, las mutaciones que suceden en células somáticas, sólo se transmiten a sus células hijas (mitosis), no al organismo completo. Pueden afectar a cualquiera de los 46 cromosomas, de células de cualquier tejido del cuerpo, tanto durante el desarrollo como en la vida adulta. Si bien pueden determinar características normales o patológicas, nunca son heredables. No obstante, son los cambios más frecuentes y en aumento, dada la exposición a mutágenos. También se exacerban con la edad y la alteración de los mecanismos de reparación del ADN. Es importante mencionar que pueden ocasionar graves problemas clínicos, como por ejemplo cáncer, si afectan genes que controlan el ciclo celular.

Figura 4.2. Colores del cáncer.



Nota. Las mutaciones en células somáticas son cambios fundamentales para el proceso carcinogénico. Se irán instaurando según la exposición del tejido a mutágenos y la predisposición genética individual.

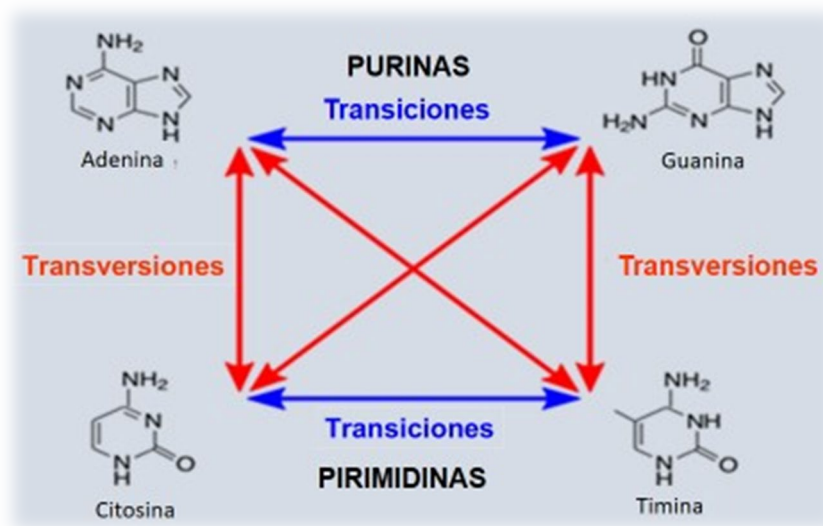
Considerando la magnitud de estos cambios, podemos hablar de **MICROLESIONES** o **mutaciones puntuales**, si involucran uno o pocos nucleótidos. Son los cambios comúnmente conocidos como “Mutación”. Las **MACROLESIONES** o aberraciones cromosómicas involucran grandes rearrreglos. Las lesiones de **orden intermedio** se dan sobre secuencias repetidas del ADN.

Cuando el cambio sucede en una región génica (estructural o reguladora) puede alterar su mensaje y llevar a una enfermedad hereditaria, monogénica o mendeliana, en tanto su forma de transmisión sigue las leyes de Mendel.

Finalmente podemos mencionar que estas modificaciones en la secuencia del ADN responden a tres causas generales: sustituciones, deleciones o inserciones de nucleótidos. En cuanto a las *sustituciones*, implican literalmente un cambio de nucleótido y son comunes tanto en zonas codificantes como no codificantes. Mientras las *transiciones* aluden a cambios de bases del mismo tipo (púricas entre sí o pirimidínicas entre sí), las *transversiones* refieren a cambios de una base púrica por una pirimidínica (o viceversa). Si bien estas últimas tienen el doble de posibilidades de ocurrir, se ha observado que los cambios más frecuentes son las transiciones, especialmente en zonas de ADN no funcional. Por otra parte, mientras que *Deleciones* consisten en la pérdida de uno o más nucleótidos de una secuencia, las *Inserciones* son lo contrario: la aparición de uno o varios nucleótidos adicionales. Ambos cambios suelen ser comunes en el ADN no codificante, pero no en el ADN codificante. Cuando afectan esta zona, pueden ocasionar un cambio en el marco de lectura y presentar un efecto drástico a nivel proteico.

Para visualizar lo expuesto, si la secuencia original fuera: **5'ABCDEFG3'**, una sustitución sería: **5'ABCXEFG3'** (de igual longitud); una deleción: **5'ABCEFG3'** (segmento más corto) y una Inserción: **5'ABCXDEFG3'** (segmento más largo).

Figura 4.3. Cambios moleculares que llevan a la instauración de mutaciones de punto.



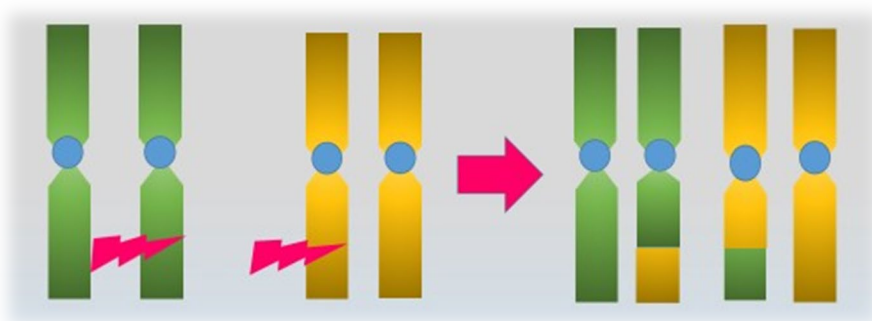
Aberraciones cromosómicas

Desde las primeras décadas del siglo XX, a partir de investigaciones realizadas en *Drosophila* y *Tradescantia*, se pudo comprobar que las radiaciones ionizantes no sólo inducen

modificaciones celulares y genéticas sino también alteraciones estructurales en los cromosomas (ACE, cambios citogenéticos). Las DSBs constituyen las lesiones críticas para instaurar estas alteraciones que dificultan la división celular y fundamentan la letalidad. La irradiación puede inducir rupturas con extremos desapareados y así cohesivos, propensos a reunirse con otros extremos similares estableciendo estas “aberraciones cromosómicas”. Ya en 1938 Sax propone su *Teoría Clásica* que la irradiación induce rupturas en uno o más puntos de los cromosomas (o cromátidas), originando fragmentos que pueden resolverse de distinta manera: 1) las lesiones pueden restituirse correctamente y recomponer la configuración original; 2) pueden fallar en la reunión, dar lugar a la pérdida de fragmentos y originar una deleción; 3) los extremos de las rupturas pueden reunirse con otros extremos de otras rupturas, **redistribuyendo** los fragmentos y originando cromosomas diferentes a los originales. Estas **fusiones ilegítimas** pueden darse en el mismo o diferente cromosomas. En este caso, la proximidad, la densidad de ionización en la trayectoria y distancia recorrida por la radiación, son elementos fundamentales. Considerando que los cromosomas se ubican en dominios nucleares particulares y que esta localización difiere con el tejido, determinados arreglos serán histológicamente más representativos unos que otros. La teoría de Revell, por otra parte, plantea que la irradiación genera una inestabilidad localizada, reactiva con zonas inestables de cromosomas vecinos, dando intercambios y originando ACE (1958). Finalmente, otro modelo propone la unión de fragmentos en sitios no dañados, pero homólogos en secuencia.

En términos moleculares, se propone que la fusión entre las DSBs interactuantes, estaría mediada por el mecanismo de reparación no homóloga (NHEJ). *La aberración cromosómica se generaría cuando dos o más fragmentos doble cadena, del mismo o distinto cromosoma (vecino), se unen ilegítimamente.* Cuando hay muchas rupturas, es posible que los diversos fragmentos del mismo cromosoma se unan a diferentes sitios del genoma, formando aberraciones complejas. Asimismo, los intercambios son más frecuentes que los intracambios, y la diferencia es más acentuada para radiaciones electromagnéticas. No obstante, las radiaciones corpusculares pueden inducir rearrreglos más complejos, dado que en su trayectoria se generan varios puntos de ruptura (fue observado en linfocitos de astronautas).

Figura 4.4. *Formación de translocaciones cromosómicas debido a DSBs en cromosomas no homólogos.*



Teniendo en cuenta la respuesta observada, se puede pensar que la trayectoria de un electrón rápido puede romper un cromosoma en varios lugares y generar intercambios proporcionales a la dosis, independientemente de la tasa, si es baja. A mayores dosis y tasas, es más probable que las DSBs se formen por trayectorias independientes de distintas partículas. De esta manera, para radiaciones de bajo LET, la formación de estos cambios sigue una relación lineal cuadrática. El componente cuadrático respalda la interacción entre diferentes lesiones y desaparece cuando la tasa es baja, debido posiblemente a la reparación. Corresponde a uniones entre fragmentos derivados de rupturas causadas por dos o más trayectorias electrónicas diferentes, sobre el mismo cromosoma o más frecuentemente sobre dos. Para radiaciones de alto LET, la relación es lineal, mostrando que cada partícula actúa independientemente y de manera constante, sea cual sea la tasa y la dosis. También se destaca que la formación de AC disminuye con la disminución de la tasa de dosis y la LET, situaciones que favorecen el proceso de reparación.

Por otra parte, considerando que los cromosomas representan el máximo grado de condensación de la cromatina durante la división celular, las aberraciones que se observan en metafase pueden incluir al cromosoma o a la cromátide. Las primeras resultan de la irradiación de la célula en interfase temprana (G1/G0), antes de la duplicación del ADN. En este caso, si la ruptura radioinducida afecta sólo a una cadena de la cromatina, durante la fase S la cadena se replica idéntica y replica así la ruptura radioinducida (involucrando la cromátida). Si ambas cadenas están rotas, el proceso generará una **aberración tipo cromosoma**. Por otra parte, si la exposición ocurre más tarde, cuando ya pasó la fase S y el material se ha duplicado (G2), las rupturas o intercambios serán observados en una sola cromátida (**aberraciones tipo cromátida o subcromátida**). En este caso, lejos del centrómero, los brazos pueden estar separados y es razonable suponer que la radiación puede alterar una cromátida sin afectar la hermana (al menos no en el mismo lugar). Ambos tipos pueden observarse después de la irradiación en la fase S.

Figura 4.5. Daño en metafase según la lesión y etapa del ciclo celular donde se produjo la irradiación.

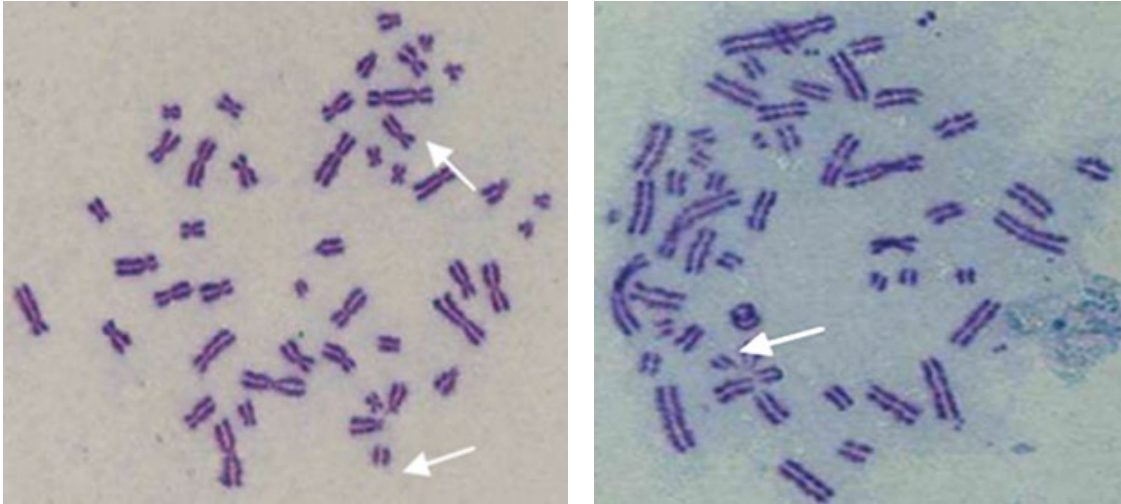


Si se tiene presente que pueden formarse muchas clases de aberraciones cromosómicas, entendemos que puede ser más útil limitarnos a describir aquellos rearrreglos que resultan letales (inestables) para la célula o que sin comprometer la viabilidad están involucrados en la carcinogénesis. Dentro del primer grupo se encuentran distorsiones groseras como dicéntricos, anillos y puentes en anafase. La formación de **dicéntricos** involucra un intercambio entre dos cromosomas separados. Si se produce una ruptura en cada uno de ellos en G1 y los extremos cohesivos están próximos pueden unirse. Este intercambio puede ser replicado luego en fase S, dando como resultado un cromosoma distorsionado con dos centrómeros. También resultan dos fragmentos sin centrómero (**acéntricos**) que pueden perderse en la siguiente metafase. En el caso de los **anillos**, la radiación puede inducir una ruptura en cada uno de los brazos de una cromátide, tempranamente en el ciclo celular. Los extremos pegajosos pueden unirse formando un anillo y un fragmento. Posteriormente, durante la fase S el cromosoma replica. Nuevamente los fragmentos acéntricos pueden perderse durante la división celular. Mientras la frecuencia espontánea de dicéntricos es 1/ 1500 células, la de anillos céntricos es 10 veces menor. En cuanto a la frecuencia de dicéntricos radioinducidos, se ha observado que disminuye con la tasa y el fraccionamiento, pero aumenta con la LET. Finalmente, otra aberración particular corresponde a los **puentes en anafase**. Ocurren por rupturas tardías en la fase G2 luego de la replicación, e involucrando ambas cromátidas del mismo cromosoma. Los extremos pegajosos pueden reunirse incorrectamente en una unión “hermana”. Durante anafase, cuando cada set cromosómico migra a polos opuestos, se formará un puente con la sección de cromatina entre los dos centrómeros. Los fragmentos se pierden porque son acéntricos. Estos cambios groseros son siempre letales en tanto inducen “**muerte reproductiva**” de la célula.

Al mismo tiempo, tenemos dos tipos de rearrreglos que no son letales (estables): las translocaciones recíprocas y las deleciones pequeñas. Una translocación involucra rupturas en dos cromosomas, antes de ser replicados (G1), e implica intercambio entre los cromosomas lesionados. Están asociadas a varias enfermedades, como linfomas y ciertas leucemias (por activación de oncogenes). Recordemos que los cromosomas no están dispuestos al azar. Algunos son más propensos a estos cambios (por ejemplo, el cromosoma 8 y 9). Si se produce una ruptura en un cromosoma puede originarse una **delección terminal**. En el caso de las **deleciones intersticiales** se involucran dos rupturas en el mismo brazo y conduce a la pérdida de la información genética entre ellas. Esto puede impactar en la activación de genes supresores de tumor, si están en esa zona. También, como en el caso de ciertos tumores tiroideos infantiles, se pueden observar **inversiones**, es decir cambios que involucran un giro de 180 grados del segmento que queda entre dos cortes, antes de volver a reunirse en el mismo cromosoma.

Como observación particular, se destaca que los reordenamientos genómicos se vuelven más comunes a medida que los organismos envejecen, en última instancia, conduciendo a la desregulación de la transcripción y a las neoplasias.

Figura 4.6. *Dicéntricos, anillos y fragmentos radioinducidos, observados durante metafase mediante microscopía óptica a 1000 aumentos.*



Nota. Gentileza Lic. María Rosa Taja. Laboratorio de Dosimetría Biológica. Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN)

Dosimetría biológica

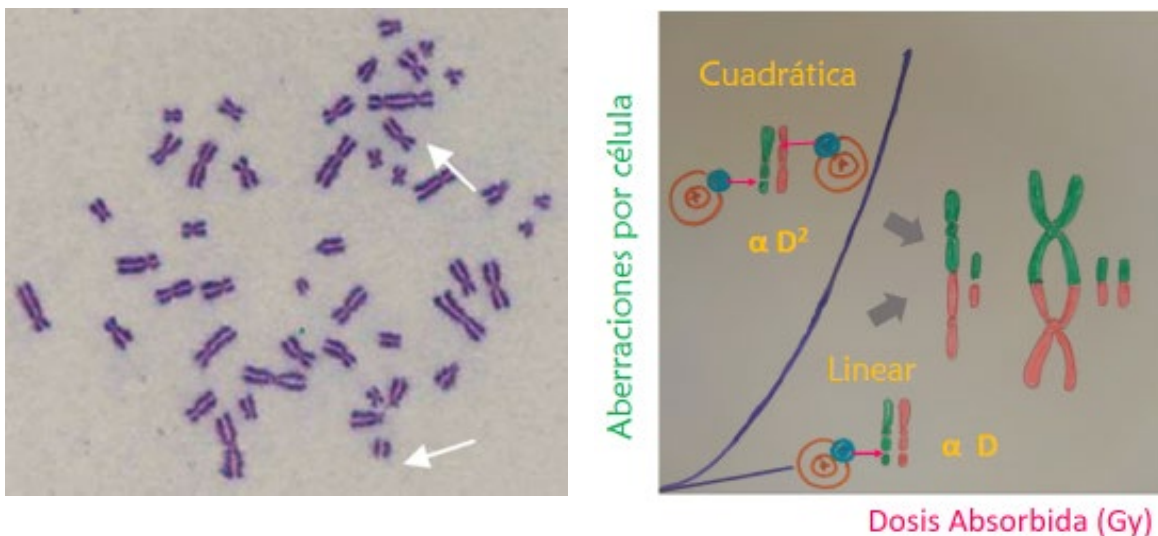
Las aberraciones cromosómicas en linfocitos periféricos, han sido ampliamente utilizadas como biomarcadores de exposición a la radiación. En muestras de sangre obtenidas para evaluación citogenética, luego de pocos días o semanas desde la exposición total del cuerpo a la radiación, la frecuencia de anillos y dicéntricos es indicativa de la dosis recibida. Estas células de la sangre en G_0 , se estimulan para dividirse con fotohemaglutinina y se detienen en metafase para el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales. La dosis puede estimarse, a partir de la comparación con cultivos celulares expuestos *in vitro* a dosis conocidas. Como se mencionó oportunamente, estos arreglos siguen una relación lineal cuadrática con la dosis (esperable de la interacción de dos rupturas cromosómicas). El componente lineal es una consecuencia de que las dos rupturas resultan de la interacción de una partícula cargada simple. Si las dos rupturas resultan de distintas partículas, la probabilidad es una función cuadrática de la dosis. Si se contabilizan un número suficiente de metafases (entre 500 a 1000) la evaluación citogenética puede detectar la exposición reciente y total del cuerpo, hasta 0.25 Gy. El estudio puede ser útil para distinguir la exposición real cuando no se conoce el escenario, como ocurre en accidentes.

Es importante mencionar que la vida de los linfocitos ronda los 1500 días y sufren recambio lento del torrente sanguíneo. Esto hace que la circulación con aberraciones inestables (dicéntricos que no pasan la división celular) vaya disminuyendo con el tiempo luego de la exposición. En el caso de las translocaciones (aberraciones estables), si bien son más difíciles de detectar suelen persistir más (se han detectado pasados más de 50 años de las exposiciones de Hiroshima y Nagasaki). Si bien su frecuencia correlaciona bien con la dosis total recibida y se asemeja a la de dicéntricos, cuando transcurre mucho tiempo de

la exposición no se consideran para dosimetría biológica. Con respecto a la cuantificación de anillos, rupturas, inversiones y otros intercambios, podría ser subjetiva y necesita aún de revisiones y validaciones. La vida media de los linfocitos con cambios inestables es de 3 años y mayor tiempo para aberraciones estables.

En cuanto a las dosis, pueden observarse aberraciones cromosómicas estructurales a partir de 0,1 Gy. Entre 0,5–2 Gy en promedio se podría encontrar una aberración/célula. Para radiación gamma a 0,5 Gy se esperan 2 dicéntricos/100 células. A dosis bajas son difíciles de detectar por potencia estadística insuficiente o debido a su eliminación por reparación o muerte celular.

Figura 4.7. Función matemática que explica el daño cromosómico letal.



Nota. Metafase con dicéntricos (izquierda). Gentileza Lic. María Rosa Taja. Arreglo lineal – cuadrático (derecha).

La aplicación de la dosimetría biológica permite resolver diversos escenarios de exposición, como por ejemplo accidentes médicos. También, en el caso de astronautas, mineros del uranio o habitantes de lugares con altos niveles de radiación (Kerala, India), se han observado diferentes aberraciones cromosómicas en sus linfocitos periféricos.

Como corolario se destaca que las aberraciones cromosómicas representan macrolesiones que no han sido bien reparadas y se correlacionan con la letalidad y mutagénesis radioinducida. Así comprendemos porque consideran una de las bases de los efectos tisulares radioinducidos.

La significancia de la muerte para la vida

“La muerte y la vida son transformaciones incesantes. No son el final de un principio. Una vez que consigamos comprender este principio, podremos dar igual valor a la vida y a la muerte”

-Chuang Tzu (369-286 a.C.) citado en S. Critchley, El libro de los filósofos muertos.

Figura 4.8. *La muerte de Pablo Escobar. Fernando Botero.*

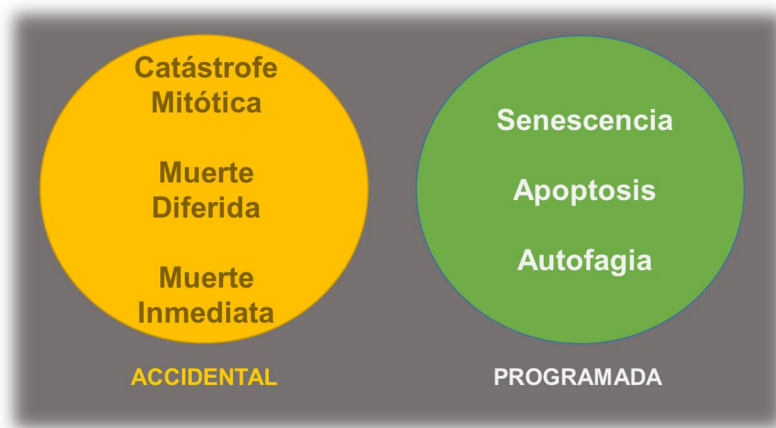


Nota. <https://historia-arte.com/obras/muerte-de-pablo-escobar>

Muerte celular

Como hemos visto, la radiación ionizante induce modificaciones en los cromosomas. Si bien el efecto depende de la estirpe celular, carga genética y momento en el que ocurra la exposición (fase del ciclo celular), estos cambios llevan a la pérdida del potencial replicativo de las células. En términos de muerte celular, los procesos no programados como la *Catástrofe Mitótica*, la *Muerte Diferida* y la *Muerte Inmediata*, junto con las vías programadas de *Senescencia*, *Apoptosis* y *Autofagia* constituyen las rutas canónicas de los sucesos letales. La medida en la que cada uno de estos procesos acontece, no sólo depende de la dosis de radiación, sino también de la integridad de ciertos genes, como por ejemplo p53, con función crucial para la apoptosis y senescencia inducidas por la radiación, entre otros agentes citotóxicos.

Figura 4.9. Consecuencias letales de la irradiación.



Catástrofe o muerte mitótica

Este tipo de muerte celular alude a la incapacidad de ejecutar eficazmente la mitosis. Se correlaciona con la presencia de aberraciones cromosómicas no reparadas, generalmente de gran envergadura. Es la principal vía de letalidad provocada por la radiación ionizante y que prevalece en células epiteliales.

La catástrofe mitótica implica la inducción prematura a mitosis, antes que terminen las fases S y G2. Comienza con la condensación desigual y precoz de la cromatina alrededor del núcleo. El proceso es promovido por la inhibición de proteínas que controlan el ciclo celular en G2 (ATM, ATR, CHK1, CHK2 y p21). En etapas avanzadas, se hincha el citoplasma y aumenta la permeabilidad de la membrana plasmática; posteriormente hay lisis citoplasmática con destrucción de organelas (mitocondrias) y dispersión del contenido celular en el espacio intercelular. El núcleo se mantiene hasta etapas avanzadas y luego se degrada.

Este tipo de muerte puede ocurrir en la primera división celular o subsiguiente a la exposición a radiaciones ionizantes. Las mitosis aberrantes producen segregación atípica de los cromosomas y la división celular implica formación de células gigantes, con morfología nuclear aberrante, núcleos multipolares (aparecen luego de una multiplicación anárquica de centrómeros) y micronúcleos que se eliminan por exocitosis ocasionando la pérdida de material genético.

Muerte diferida

En el caso que la irradiación induzca aberraciones cromosómicas más leves que dicéntricos o rearrreglos complejos, generalmente se logra la división celular y transmisión de los cambios a las próximas generaciones. Las translocaciones, deleciones o inversiones son compatibles con la sobrevivencia y escapan de su eliminación por muerte celular. No obstante, las células con estos cambios pueden morir más tarde o demostrar inestabilidad cromosómica mediante clones con anomalías cariotípicas, que evolucionan a lo largo de las divisiones celulares y llegan a una muerte diferida. Así, este proceso correlaciona con bajo potencial clonogénico y frecuentemente aparición de microcolonias.

Figura 4.10. *La persistencia de la memoria.* Salvador Dalí..



Nota. Fuente: <https://historia-arte.com/obras/la-persistencia-de-la-memoria>

Muerte inmediata

Ocurre a minutos o pocas horas de producida la exposición a dosis altas de radiación. Puede interpretarse como un suicidio celular, dado por el agotamiento energético debido a la síntesis masiva de polímeros. La hiperactivación de la enzima PARP-1 inducida por las SSBs, promueve la elongación de polímeros de ADP ribosa con gasto de NAD⁺. Esta síntesis intensiva de polímeros es acompañada por un gasto vertiginoso de NAD⁺ y disminución concomitante de ATP, lo que lleva a la muerte rápida de la célula. Los cambios morfológicos cursan con pérdida de la integridad de la membrana plasmática, activación de los lisosomas y degradación de las organelas (principalmente mitocondrias).

Senescencia

Alternativamente a la inducción de apoptosis, la activación y sobreexpresión de p53 por radiación ionizante y subsecuente expresión de p21, llevan a detener irreversiblemente el ciclo celular en G1. Este fenómeno se observó en fibroblastos diploides y células tumorales expuestas a una dosis de 40 a 60 Gy (únicas). Este arresto del ciclo celular sin proceso lítico, tiene como función eliminar la capacidad reproductiva. No obstante, la célula continúa metabólicamente activa. Dado que las células irradiadas acumulan daño clastogénico, este proceso podría responder a un mecanismo de protección carcinogénico. Pero también, representar una alternativa de evasión de las células tumorales hacia el daño radioinducido: permanecer arrestadas hasta que las condiciones del microambiente las estimulen y puedan avanzar generando recidivas, mucho tiempo después de la radioterapia.

Apoptosis

Este término griego, alude a la caída otoñal de las hojas de los árboles. Su analogía celular busca describir como a partir de ciertos estímulos, una célula activa el camino que la lleva a su muerte. El proceso programado desde el genoma, tiene como función mantener la homeostasis en distintas poblaciones celulares y sucede tanto en condiciones fisiológicas (desarrollo embrionario, desprendimiento del endometrio, etc.), como así también, en patologías oncológicas, SIDA y otras virosis (hepatitis B o C).

Durante la apoptosis se observan cambios morfológicos de la célula, como la condensación de la cromatina en la periferia nuclear y su posterior fragmentación. También la célula se redondea y reduce el volumen celular, conservando aún la membrana plasmática. Finalmente, se forman “pseudópodos” y se pierde la integridad. Si bien junto con cambios en las organelas

se originan cuerpos apoptóticos característicos, los macrófagos suelen ingerir previamente a las células, antes que formen estas estructuras.

Existen tres cambios moleculares que caracterizan la apoptosis: 1) activación de caspasas (cisteína-proteasas), 2) fragmentación de la cromatina y algunas proteínas y 3) cambios de la membrana plasmática y reconocimientos de macrófagos, que resulta en la fagocitosis celular. La activación de las caspasas (punto central del mecanismo), posibilita el clivaje de proteínas vitales y la desorganización del andamiaje nuclear y del citoesqueleto citoplasmático. También se activan endonucleasas que degradan al ADN nuclear.

La apoptosis se puede ejecutar por tres vías diferentes, según la dosis de radiación y estirpe celular. Generalmente, la radiación ionizante induce la *vía intrínseca*, que implica un aumento de la permeabilidad mitocondrial y liberación de moléculas proapoptóticas hacia el citoplasma, como el citocromo-c, y la formación del apoptosoma. También se puede dar la *vía extrínseca* a través del *receptor de muerte*. Finalmente, la *Vía de estrés de membrana* involucra la liberación de ceramidas y señalización a través de un segundo mensajero. En los dos primeros casos es determinante la activación de p53 en relación a la respuesta al daño en el ADN (DDR) y oportunidad de arresto del ciclo celular. Veamos en que consiste cada vía.

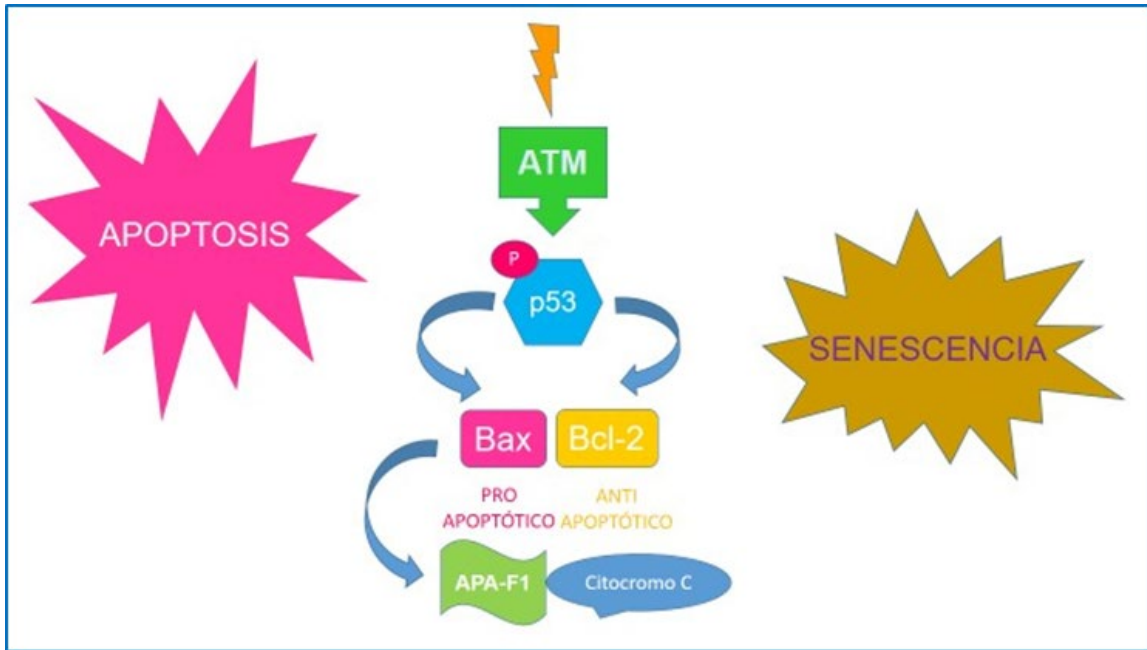
Vía intrínseca (o mitocondrial)

Se inicia con estímulos internos como el daño genético irreparable, la hipoxia o el estrés oxidativo severo, entre otros. En el caso de la irradiación, esta vía se instaura luego de la inducción de SSB y DSB sin posibilidad de reparación. La respuesta a este daño al ADN se constituye por el tipo de activación de p53, dando mayores posibilidades hacia la apoptosis que a la detención del ciclo celular. Este factor de transcripción se acumula en el núcleo y activa la expresión de genes proapoptóticos (BAX, entre otros) y reprime la expresión de genes antiapoptóticos (BCL2, entre otros). Así, el control del evento ocurre por proteínas (proapoptóticas o antiapoptóticas) que gobiernan la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa, abriendo (BAX) o cerrando sus poros (BCL2). El balance entre proteínas pro y antiapoptóticas determina si se va a iniciar o no el proceso. El mismo, se pone en marcha y avanza mediante caspasas que se van activando por clivaje proteolítico (dado que son sintetizadas de forma inactiva). Esta cascada apoptótica depende de la estabilización de p53, por inhibición de su degradación por el proteosoma y también de eventos en la mitocondria.

Bajo condiciones normales BCL-2 está presente en la membrana y ejerce efecto antioxidante manteniendo el poro cerrado. Cuando predomina BAX, se abre el poro y libera el citocromo c, que se une a una proteína adaptadora (ApoF1: factor de activación de proteasa apoptótica 1) y forma un complejo (Apoptosoma) donde se ensamblan procaspasas iniciadoras para clivarse y activar a otras procaspasas, induciendo una reacción en cascada. Posteriormente, hay proteólisis de proteínas de reparación, de ensamblaje de la cromatina y de polimerasas. En la etapa final se liberan nucleasas y se degradan proteínas de sostén de la membrana plasmática.

Como punto singular, se menciona que algunas proteínas de choque térmico (HSP) que interfieren con la formación del apoptosoma e impiden este proceso en células tumorales, podrían ser blanco de terapias de radiosensibilización.

Figura 4.11. Secuencia de sucesos programados.



Nota. Tanto la apoptosis como la senescencia dependen de la activación de p53

Vía extrínseca (o del receptor de muerte)

La apoptosis radioinducida también puede darse por esta vía canónica, que se activa por p53, cuando los ligandos de muerte se unen a sus receptores. Entre ellos, los más conocidos son el receptor del Factor de Necrosis Tumoral TNF α , y una proteína relacionada llamada Fas (CD95). Tienen un dominio intracelular que luego de su unión al ligando específico, recluta proteínas adaptadoras y activa a las caspasas iniciadoras para desencadenar la cascada de reacciones de sus homólogas efectoras. Esta vía también puede promoverse por falta de señales de crecimiento o pérdida de adhesión (anoikis).

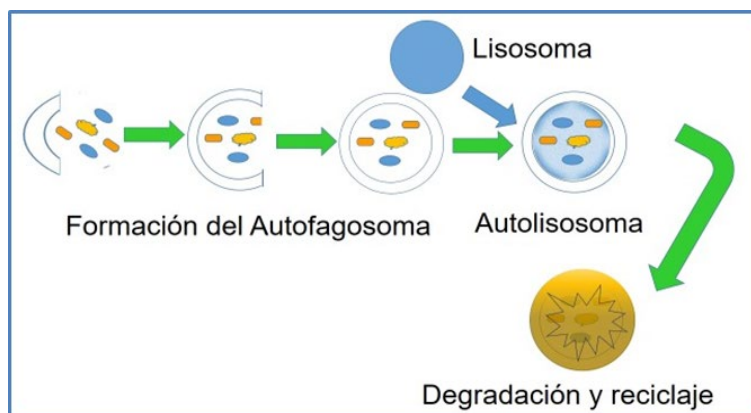
Vía de estrés de membrana

Este proceso es independiente del daño al ADN y de p53. La RI induce la formación de ROS, que inflige daño oxidativo a lípidos de la membrana plasmática e implica la activación de la Esfingomielinasa, que lleva a la hidrólisis de esfingomielina de la membrana y se libera ceramida como segundo mensajero, que conduce a la acción de las caspasas.

Autofagia

Es un proceso regulado por la célula, que posibilita la degradación ordenada y el reciclaje de componentes celulares. Permite eliminar componentes innecesarios o disfuncionales. Se establece por la digestión de organelas dañadas, como Cuerpos de Golgi, retículo endoplásmico y polirribosomas. Contrariamente a la apoptosis, se degradan las mitocondrias pero se preserva el citoesqueleto. Así, los componentes citoplasmáticos se aíslan del resto de la célula dentro de una vesícula de doble membrana conocida como autofagosoma, que se fusiona con un lisosoma, procesando y eliminando desechos; eventualmente el contenido de la vesícula (autolisosoma) se degrada y recicla. Las proteínas específicas que se activan son las Catepsinas.

Figura 4.12. Pasos secuenciales del proceso de autofagia.



La autofagia posibilita la adaptación celular en condiciones de privación de reservas metabólicas. De esta manera, representa un mecanismo de supervivencia y probablemente es cardinal para la homeostasis celular. En el caso extremo de inanición, la descomposición de los componentes celulares promueve la supervivencia celular al mantener los niveles de energía célula.

Por otra parte, este proceso juega un rol importante en la supervivencia de las células tumorales, que lo usan como una forma de combatir el estrés. Se ha observado que su inhibición mejora la eficacia de las terapias contra el cáncer. Se ha sugerido que podría ser un proceso antagónico a la apoptosis radioinducida y constituir un factor de radioresistencia.

La identificación de genes de esta vía en la levadura, posibilitó deducir el mecanismo de este proceso, considerado de tal significancia, que llevó a la concesión del Premio Nobel de Medicina al investigador japonés Yoshinori Ohsumi.

Se dará un cierre a esta sesión, resumiendo en la siguiente tabla, los diferentes procesos letales que puede sufrir una célula de mamífero, luego de ser expuesta a dosis altas de radiación ionizante.

Tabla 1.4. Clases de muerte celular radioinducida en relación al estirpe celular.

Muerte Inmediata	Senescencia	Muerte Mitótica Muerte Diferida	Apoptosis	Autofagia
No Programada	Programada	No Programada	Programada	Programada
Cél. Epiteliales	Fibroblastos	(Deficientes en p53)	Linfocitos	Neuronas
Cél. Endoteliales		Cél. Epiteliales	Timocitos	Cél. Epiteliales
Miocitos		Próstata		
Fibroblastos		Acinos Salivares		
		Criptas Intestinales		

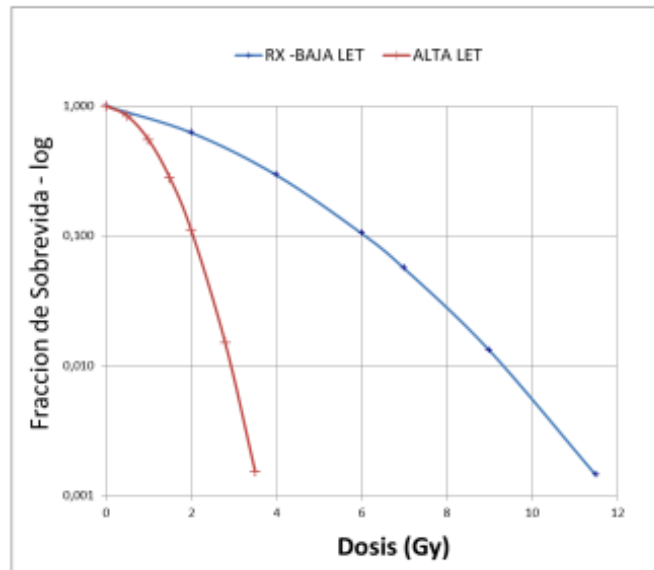
Curvas de sobrevida

Estas curvas describen la relación entre la dosis de radiación absorbida por una población celular y la fracción de células que sobrevive a esa exposición. Fueron inicialmente realizadas por Puck y Marcus en 1956, a partir del trabajo con células cultivadas *in vitro* y posteriormente en 1959 con animales de laboratorio.

Ante todo, se debe tener presente que la muerte celular puede concebirse de diferentes maneras. Por ejemplo para células diferenciadas que no proliferan (nervio, músculo, células secretoras), puede ser entendida como la pérdida de una función específica. En tanto, para células en proliferación, como las *stem cells* del sistema hematopoyético o del epitelio intestinal, es más apropiado considerar la pérdida de la capacidad de proliferación sostenida (muerte reproductiva). Si bien una célula puede estar estructuralmente intacta y realizar sus funciones vitales, puede haber perdido su capacidad de dividirse más allá de algunas pocas veces. Contrariamente, cuando mantiene la capacidad de proliferar indefinidamente (células tumorales), es relevante para el ámbito de la radioterapia, donde se busca abolir ese potencial clonogénico. Mientras que en sistemas no proliferantes la dosis para destrozarse la función celular alcanza a 100 Gy, la dosis letal promedio para lograr pérdida de capacidad proliferativa, usualmente es cercana a 2 Gy.

A través del ensayo clonogénico (mide la capacidad de una célula de formar colonias mediante divisiones sucesivas), se ha logrado construir curvas de sobrevida a diferentes dosis de radiación, para diversas líneas celulares de mamíferos. Por convención, se representan en coordenadas semilogarítmicas. Las dosis se ubican en las abscisas, sobre escala lineal y la fracción de sobrevida en las ordenadas, en escala logarítmica. Con exposición X o γ a una tasa de dosis estándar (1Gy/min), en medio oxigenado, originan frecuentemente una curva de aspecto convexo con un hombro inicial.

Figura 4.13. Efecto de la LET sobre la curva de supervivencia.



Su abordaje simple refiere que a dosis bajas, para radiación de baja LET (escasamente ionizante) como los rayos X, la curva comienza como una trama lineal – logarítmica, con una pendiente inicialmente finita. Esto es, la fracción de supervivencia es una función exponencial de la dosis. A dosis mayores la curva forma un “hombro”, en una zona de unos pocos Grays (probablemente por reparación de lesiones), y a dosis mayores vuelve a enderezarse y retoma una función exponencial. Este escenario generalmente se presenta en las dosis fraccionadas utilizadas en radioterapia. Por contraste, para radiaciones densamente ionizantes (alta LET), como las partículas alfa o neutrones de baja energía, la curva es recta desde el origen, descifrando que la supervivencia se aproxima a una función exponencial de dosis.

Si bien se han esbozado diversas interpretaciones biológicas, este *Modelo Lineal Cuadrático* (MLQ) es el más utilizado en el ámbito de la Radioterapia, por ser una representación adecuada de los datos y presentar dos parámetros fácilmente ajustables (α y β). Asume que hay dos componentes para el efecto letal de la radiación: uno que es proporcional a la dosis, y otro al cuadrado de la dosis. La noción de un componente de inactivación celular que varía con el cuadrado de la dosis, introduce el concepto de acción dual de la radiación. Esta idea remonta a trabajos con cromosomas, donde varias aberraciones cromosómicas eran el resultado de dos rupturas de ADN independientes (dicéntrico, anillo). La expresión para la curva de supervivencia es:

$S = e^{-\alpha D - \beta D^2}$ en la cual S es la fracción de células que sobreviven a una dosis D , y α y β son constantes.

Cuando el componente del daño letal proporcional a la dosis, es igual al componente del daño letal referido al cuadrado de la dosis: $\alpha D = \beta D^2$ tenemos la relación $D = \alpha/\beta$. Es la dosis en la cual, ambos componentes contribuyen por igual a la letalidad radioinducida y ayuda a caracterizar el hombro. Una característica de la relación lineal cuadrática, es que la curva está continuamente “doblando”, no presenta un final recto.

El ajuste de estas curvas a una función matemática, da la posibilidad de relacionar y comparar resultados obtenidos a partir de distintos tipos de células. También de cuantificar el efecto cuando se modifican determinadas condiciones (tasa de dosis, presencia de radiomoduladores o factores de crecimiento, etc.). No obstante, se debe tener cuidado al adjudicar a estas expresiones matemáticas un significado biológico. Si bien estas curvas presentan buena correlación *in vivo*, resta resolver que ocurre con la interacción de la célula o tejido irradiado con su microambiente normal o tumoral. Por otra parte, no hay modelo matemático que pueda integrar la diversidad de lesiones radioinducidas en las células y la versatilidad de respuesta. Hay diferentes genes que se expresan y la radiosensibilidad varía con las etapas del ciclo celular o la aneuploidía de ciertas líneas. De esta manera, los modelos deben considerarse sólo como una herramienta de análisis matemático.

En términos pragmáticos, el MLQ se utiliza desde hace varias décadas en radioterapia, dado que presenta un buen ajuste entre 0,5 y 10 Gy. La correlación entre el valor de supervivencia a 2Gy y la respuesta radioterapéutica es directa. En su uso cotidiano para dosis mayores a 1 Gy, este modelo permite adaptar y probar alternativas de fraccionamiento a la situación clínica. No obstante, para valores menores a 0,5 Gy la diferencia con el dato experimental, limita su validez.

Factores que influyen en la respuesta celular a la irradiación

Las curvas de supervivencia posibilitaron evidenciar los factores más significativos que afectan la respuesta celular a la radiación. El efecto a una exposición radiante, no sólo dependerá del tipo de célula y de la dosis o de su tasa, sino también como hemos visto, de la presencia de oxígeno (grado de vascularización del tejido) que exacerba la acción indirecta de las radiaciones o de radioprotectores que mitigan este mecanismo. Asimismo será de suma importancia la etapa del ciclo vital que atraviesa la célula cuando recibe la exposición.

Las células de mamífero presentan un máximo de radiosensibilidad en G2 y M y un máximo de radioresistencia en la fase S tardía del ciclo celular. En G1 la sensibilidad a la radiación es intermedia, pero varía con la línea celular. Dado que la frecuencia de lesiones genotóxicas radioinducidas no depende del ciclo celular, se supone que las diferencias de radiosensibilidad se relacionan con la reparación. Así, mientras en mitosis se observa que las rupturas se mantienen, debido posiblemente a la inaccesibilidad de la maquinaria de reparación por el grado de compactación de la cromatina, la eficacia de estos mecanismos en la fase S, sería la base de la alta radioresistencia observada.

En relación al ciclo celular, también es importante mencionar que la radiación altera su progresión (*redistribución radioinducida*). En las células de mamífero (salvo las que presentan mutaciones en ATM), se observa una detención en G2, de aproximadamente 1 hora/Gy. A dosis menores a 0,1 Gy hay una gran dispersión en la distribución y resolución de las lesiones.

Finalizando este punto y como factor de gran significancia se entiende que la calidad de la radiación debe ser considerada ante todo, en tanto radiaciones de distinta LET, pueden variar en

la dosis que produce un respuesta dada, aún en las mismas condiciones. Así, se define como *Eficacia Biológica Relativa (EBR)*, a la relación de dosis que permite comparar que dosis de una radiación particular hay que entregar, para alcanzar el mismo efecto biológico inducido por una radiación conocida. Por ejemplo, la EBR de los protones y neutrones es 10 y la de los rayos X y γ de 1 tomando como referencia la dosis de rayos X de 250 KeV.

Referencias

- Figura 4.1. Sierra Valentí X. (2017). Dalí y el ADN (I): La doble hélice de la vida. <http://xsierrav.blogspot.com/2017/02/dali-y-el-adn-i-la-doble-helice-de-la.html>.
- Figura 4.8. Iborio E. (2018). La muerte de Pablo Escobar. <https://historia-arte.com/obras/muerte-de-pablo-escobar>.
- Figura 4.10. Bolaño E. (2017). La persistencia de la memoria. <https://historia-arte.com/obras/la-persistencia-de-la-memoria>.
- Creus A. (2006). Genotoxicidad, Mutagénesis y Carcinogénesis. Paz y Miño C, Creus A, Cabré O y Leone P. *Genética Toxicológica y Carcinogénesis* (pp 22-28). FUNDACYT-PUCE. Ecuador.
- Favaudon, V. (2008). Efectos celulares de las radiaciones ionizantes. Radiosensibilidad, ciclo celular y muerte celular. Tubiana M. *Radiobiología*. Tercera Edición (pp 187 - 231). Editorial Hermann/Medicina. París.
- Hall, EJ and Giaccia A. (2012). Cell Survival Curves. Hall, EJ and Giaccia A. *Radiobiology for the Radiologist*. Seventh Edition. pp 35 - 47. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.
- Hall, EJ and Giaccia A. (2012). Molecular Mechanisms of DNA and Chromosome Damage and Repair. Hall, EJ and Giaccia A. *Radiobiology for the Radiologist*. Seventh Edition. pp 23 - 33. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.
- Haustermanns K, Withers HR. (2004). The biological basis of fractionation. *Rays*. 29 (2): 231-236.
- International Atomic Energy Agency. IAEA. (2010). *Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students*, Training Course Series No. 42, Vienna.
- Lehnert S. (2008). Radiation induced apoptosis. Lehnert S. *Biomolecular action of ionizing radiation* (pp 279-301). New York. Taylor Francis.
- Maier P, Hartmann L, Wenz F and Herskind C. (2016). Cellular Pathways in Response to Ionizing Radiation and Their Targetability for Tumor Radiosensitization. *Int J Mol Sci*. 14; 17 (1): 102
- Ruiz, A. (1996). Citogenética. Tamarín RH. *Principios de Genética*. pp: 175 - 195. Barcelona. Editorial Reverté.
- Xamena N. (1996). DNA: mutación, reparación y recombinación. Tamarín RH. *Principios de Genética* (pp: 459 – 490). Barcelona. Editorial Reverté.

CAPÍTULO 5

Efectos de la radiación ionizante sobre moléculas y estructuras celulares

Eliana Ocolotobiche

Figura 5.1. Galatea de las esferas. Salvador Dalí.



Nota. Fuente: <https://historia-arte.com/obras/galatea-de-las-esferas>

Introducción

La exposición a RI interrumpe directa o indirectamente el estado bioquímico de un organismo, lo que inicia una serie de eventos moleculares. En general cuando uno piensa en la interacción de las radiaciones ionizantes con las células, la primera idea que surge hace referencia al daño sobre el ADN y a la señalización disparada por dicho suceso. Menos atención se suele dar, a la interacción a nivel citoplasmático, donde se observa perturbación de las reacciones intracelulares de óxido/reducción y estas condiciones pueden permanecer durante días. El cambio del estado redox normal de la célula, es capaz de gatillar una respuesta protectora o dañina que va a contribuir al efecto final de las radiaciones. Este proceso incluye vías de señalización sensibles a este cambio, activación de factores de transcripción, modificaciones en la expresión génica y actividades metabólicas que gobiernan la producción de compuestos oxidantes y reductores.

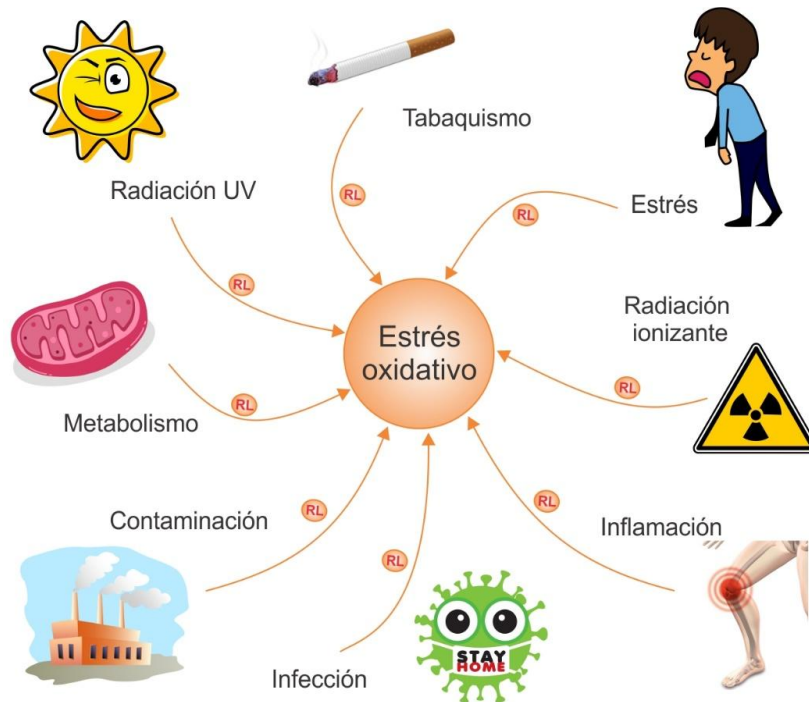
Las radiaciones ionizantes producen radicales libres en los sistemas vivos, que resultan en el daño a moléculas como el ADN, proteínas y lípidos, que en conjunto contribuyen al efecto biológico de las radiaciones. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) radioinducidas, se suman a las ROS que constantemente son producidas por el metabolismo oxidativo celular. A pesar de que las células están adaptadas para tolerar cantidades bajas de ROS, niveles excesivos, que pueden provenir de un desbalance entre producción de oxidantes y respuesta antioxidante, producen un estado de estrés oxidativo, que es muy dañino para la célula, y característico de ciertas condiciones patológicas como la carcinogénesis, la diabetes mellitus y la aterosclerosis.

Fuentes de radicales libres

La mitocondria es considerada la principal fuente de radicales libre. El metabolismo oxidativo se da en este compartimento, conocido como la organela de mayor importancia para la producción de ATP, molécula indispensable para el organismo porque otorga la energía necesaria para todos los procesos vitales. Las células obtienen energía de la oxidación controlada de sustratos (carbohidratos, grasas, etc), de la cual consiguen equivalentes reductores (electrones) necesarios para la cadena transportadora de electrones mitocondrial. Esta cadena está acoplada a la producción de ATP, siendo el oxígeno (O_2) el aceptor final de electrones. Además, se obtienen equivalentes reductores en la forma de NADH y NADPH, esenciales en muchos procesos celulares. Esta estrategia metabólica a pesar de ser fundamental para la homeostasis celular y extremadamente eficiente, lleva a la formación de subproductos como ROS. Asimismo, los Peroxisomas poseen una gran cantidad de enzimas que producen H_2O_2 .

Cabe señalar, que los radicales libres no solamente son formados de manera endógena o por medio de la exposición a radiaciones. Existen otros factores o fuentes que favorecen la formación de estas especies, tales como el tabaquismo, la exposición a contaminantes del aire y productos químicos industriales, las inflamaciones o infecciones y el estrés.

Figura 5.2. Fuentes de radicales libres.



Principales especies reactivas

Las especies reactivas de oxígeno incluyen moléculas químicamente reactivas, derivadas de oxígeno (o derivadas de nitrógeno en el caso de RNS). Algunas de ellas son extremadamente reactivas como el radical hidroxilo y otras menos reactivas como el superóxido. Las formas de ROS más importantes son el anión superóxido, peróxido de hidrogeno, radical hidroxilo y óxido nítrico. El **anión superóxido** ($O_2^{\cdot-}$), es un radical libre muy abundante y el más común a nivel celular, pero no muy reactivo y no es capaz de traspasar las membranas lipídicas. Se produce en ambientes aerobios ricos en electrones, como la cercanía de la membrana mitocondrial interna o por la acción de enzimas como la lipooxigenasa o ciclooxigenasa. El **peróxido de hidrogeno** (H_2O_2), no es un radical libre, dado que no posee electrones desapareados, pero es una molécula muy importante ya que tiene la capacidad de penetrar membranas biológicas y es intermediario en la producción de la mayoría de los radicales libres, siendo el radical hidroxilo uno de los más importantes. Además, es una molécula de señalización intracelular, que interviene en procesos como la regulación de la concentración intracelular de calcio. El **radical hidroxilo** ($\cdot OH$) es muy reactivo y tiene una vida media corta, en tanto reacciona rápida e inespecíficamente con los blancos celulares más cercanos. Es capaz de causar más daño celular que cualquier otro ROS ya que las células no poseen un sistema enzimático capaz de neutralizarlo. El **óxido nítrico** ($\cdot NO$) no reacciona fácilmente con la mayoría de las biomoléculas, pero sí con otros radicales libres. En concentraciones fisiológicas funciona como un mensajero intracelular y también es capaz de atravesar la membrana celular transmitiendo señales a otras células. El

efecto de $\cdot\text{NO}$ sobre el estado redox es multifacético, ya que puede actuar como oxidante en algunas situaciones y antioxidante en otras.

Las ROS pueden reaccionar con la mayoría de las biomoléculas desencadenando una reacción de formación de radicales libres. Para frenar esta reacción un radical libre debe reaccionar con otro radical libre, eliminando el electrón desapareado o con un *scavenger* (secuestrador) de radicales libres.

Efecto de ROS y RNS inducidos por radiación

Figura 5.3. Principales especies reactivas.



Los efectos perjudiciales de las RI se asocian principalmente con la sobreproducción de ROS, lo que provoca efectos tóxicos en los sistemas biológicos. El exceso de producción de ROS en comparación con antioxidantes endógenos disponibles conduce al daño oxidativo. Esto provoca efectos nocivos en las macromoléculas celulares, lo que lleva al daño estructural y funcional de las células.

Interacción con el ADN

El ADN es el objetivo principal de las RI. Como vimos, el daño radioinducido se caracteriza por la presencia de purinas y pirimidinas oxidadas, mutaciones puntuales y rupturas de simple (SSB) y doble cadena (DSB), entre otros. Mientras las SSB a menudo se reparan eficazmente mediante mecanismos celulares, la reparación de las DSB es difícil y puede inducir muerte celular o mutagénesis. Por lo tanto, el daño en el ADN puede causar cáncer, alteraciones en funciones celulares vitales y envejecimiento.

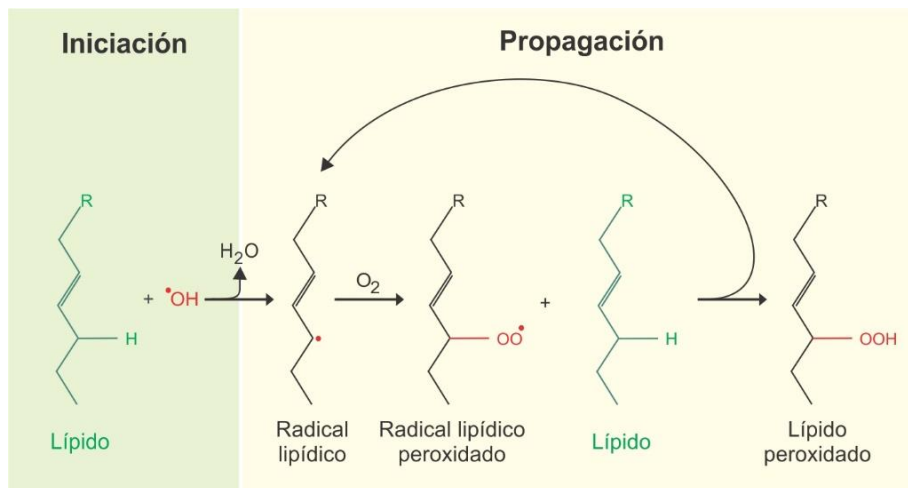
Interacción con lípidos

Las membranas biológicas están compuestas principalmente por fosfolípidos, organizadas como una bicapa lipídica con proteínas transmembrana (que atraviesan la bicapa lipídica), proteínas intrínsecas (proteínas insertas en la membrana) y proteínas periféricas (proteínas asociadas a la membrana o a otras proteínas). La localización de las proteínas en las membranas no es al azar, sino que son sintetizadas y localizadas de manera definida, de acuerdo a sus propiedades, estructura y función.

Las propiedades funcionales de la MP están dirigidas principalmente por las proteínas y su orientación, pero las propiedades biofísicas están impuestas por los lípidos. Los parámetros biofísicos, como son la fluidez de la membrana, resistencia a cambios de curvatura y tensión son controlados por la naturaleza química y concentración de lípidos. Estos factores impactan directamente en la función de las proteínas transmembrana y como consecuencia en la capacidad de la MP de regular la comunicación intercelular. Otros mecanismos que no involucran proteínas, pero si deformaciones de la MP (endocitosis, exocitosis, fusión de membranas) también están determinados por cambios en la composición lipídica.

El componente lipídico de las membranas celulares tiene una exposición significativa al entorno celular acuoso. Aunque la radiación es capaz de dañar directamente los lípidos, el daño indirecto inducido por los productos de radiólisis del agua (ROS) es el que contribuye en mayor medida a la modificación general de los lípidos por RI. La radiación induce la peroxidación de lípidos, en particular la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados. Estos lípidos poseen enlaces dobles entre algunos de sus átomos de carbono que son susceptibles al ataque de los ROS. La iniciación de la peroxidación lipídica ocurre por el ataque de una especie lo suficientemente reactiva como para sustraer un átomo de hidrógeno de un grupo metileno (-CH₂-) generando un radical lipídico. Ésta molécula sufre rearrreglos para obtener un radical lipídico más estable, que en presencia de oxígeno es capaz de reaccionar con otra molécula lipídica generando un nuevo radical lipídico y convirtiéndose en hidroperóxido lipídico. El nuevo radical lipídico generado puede reaccionar con un nuevo ácido graso empezando el ciclo otra vez. De esta manera, la ROS ha iniciado un proceso autopropagado de degeneración oxidativa de moléculas lipídicas polinsaturadas.

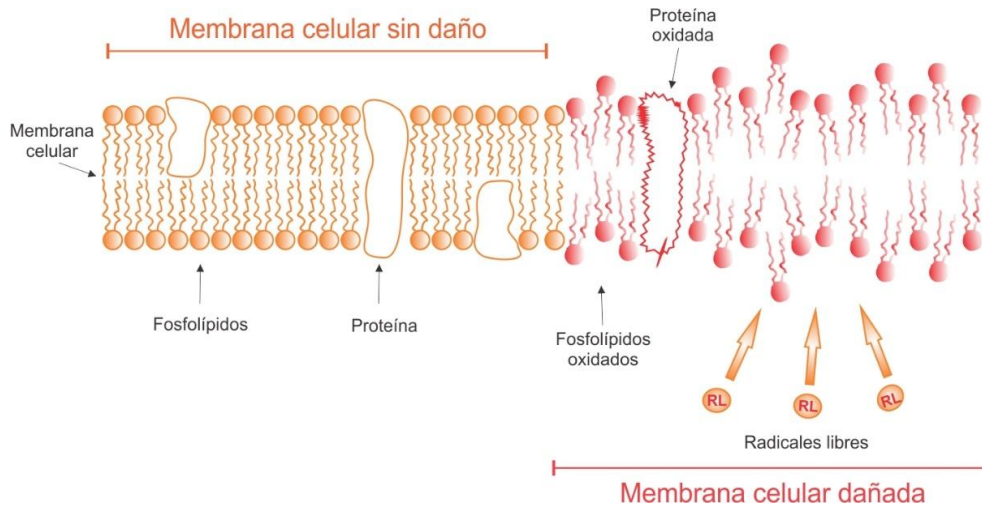
Figura 5.4. Peroxidación de lípidos.



Este proceso conduce a un aumento de la permeabilidad de la membrana, la interrupción de los gradientes iónicos y otros procesos y la alteración de la actividad de las proteínas asociadas a la membrana. Finalmente la inhabilidad de la MP para mantener la homeostasis iónica puede resultar en la muerte. Los niveles moderados de hidroperóxido lipídico activan la respuesta al estrés oxidativo que, cuando resulta sobrepasada, conduce a la apoptosis. Por otro lado, niveles

altos y generalizado hidroperóxido lipídico, dan como resultado un daño global a la membrana celular y al contenido intracelular, lo que desencadena la lisis y necrosis.

Figura 5.5. Perturbación de la membrana celular por radicales libres.



Los estudios de RI dirigidos a la membrana celular revelaron la inducción de apoptosis a 5-10 Gy a través de niveles elevados de ceramida. Este resultado se observó incluso en células sin núcleo, revelando otra vía de daño celular por RI independiente del daño al ácido nucleico. Las ceramidas se generan en respuesta a la irradiación celular y funcionan como segundos mensajeros para estimular una cascada de quinasas y factores de transcripción que están involucrados en diversas respuestas celulares.

Interacción con proteínas

Las proteínas presentes en el interior de las células son objetivos biológicos críticos para el daño oxidativo y se ven afectados directa o indirectamente por RI de muchas maneras, tales como oxidación, escisión, carbonilación, entrecruzamiento de proteínas, conversión de aminoácidos y reacciones redox inducidas por ROS. En general, la principal consecuencia de la interacción radiación-proteína es su desnaturalización, es decir una alteración de la estructura nativa (más estable) que modifica su funcionalidad. Así, al verse afectada la estructura y función de las proteínas, pueden modificarse procesos fundamentales para las células como por ejemplo la señalización o el tráfico celular.

Muerte celular

Tal como analizamos previamente, el estrés oxidativo causa un desequilibrio en el estado redox de las células, que daña biomoléculas como proteínas y lípidos, esto puede ocasionar la despolarización de la MP y/o de la membrana mitocondrial precipitando la muerte celular.

La despolarización mitocondrial conduce a la liberación de citocromo C en el citoplasma, activando luego la cascada de caspasas. La activación de la vía de las caspasas produce la fragmentación del ADN y escisión de proteínas citosólicas y nucleares, lo que lleva a la muerte celular. Por otro lado, el daño inducido por las RI o el estrés oxidativo severo inician otra vía de apoptosis, que está mediada por la proteína p53 activada. Esta vía también lleva a la muerte celular por intermedio de la liberación de citocromo C.

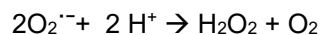
Sistema de defensa antioxidante

Los organismos evolutivamente desarrollaron sistemas de defensa antioxidante, para poder neutralizar a las especies reactivas. Un antioxidante es toda sustancia que retarda o previene la oxidación de un sustrato oxidable. El sistema de defensa antioxidante se puede dividir en dos grupos: el sistema enzimático y el de compuestos antioxidantes de bajo peso molecular (no enzimático).

Sistemas de defensa enzimático

Se puede destacar la acción de las enzimas Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa y Glutación peroxidasa (GPx):

La **Superóxido dismutasa** cataliza la inactivación del radical $O_2^{\cdot-}$. La SOD mitocondrial contiene Mn (Mn-SOD) y es esencial, ya que en la mitocondria el $O_2^{\cdot-}$ se genera en niveles muy altos debido a la fuga de electrones de la cadena respiratoria. La expresión Mn-SOD es inducida por estrés oxidativo. La SOD citosólica que contiene Cu/Zn (Cu/Zn-SOD) parece ser menos importante que la mitocondrial, dado que animales transgénicos que no poseen la enzima funcional presentan un fenotipo aparentemente normal, a diferencia de aquellos ratones donde la Mn-SOD no es funcional, que mueren pronto luego de nacer. La SOD cataliza la dismutación del superóxido:



La **Catalasa** se encuentra principalmente en peroxisomas y mitocondrias donde hay una gran producción de H_2O_2 , cataliza la dismutación del peróxido de hidrogeno.



La **Glutación peroxidasa** es una selenoproteína, que utiliza **GSH**, como agente reductor. Cataliza la reducción de H_2O_2 y otros hidroperóxidos orgánicos en agua y alcohol. En esta reacción dos moléculas de GSH se oxidan a glutación disulfuro (GSSG), y una molécula de hidroperóxidos orgánicos en alcohol y agua.



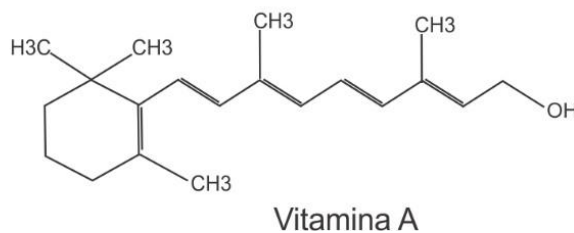
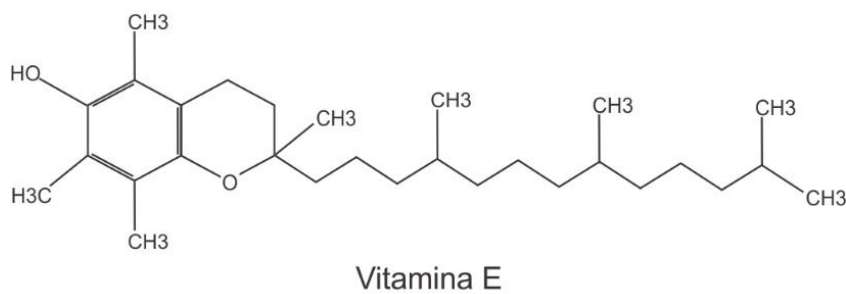
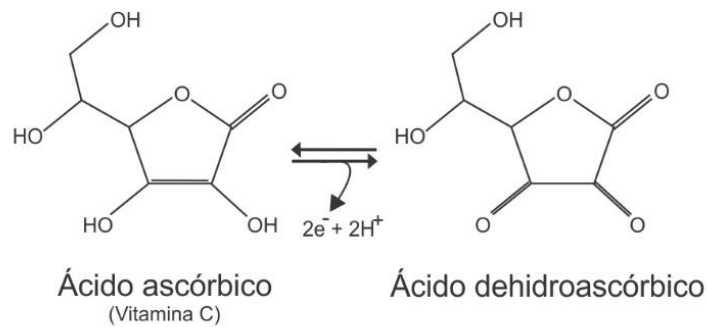
Sistema de defensa no enzimático

Comprende un conjunto de moléculas antioxidantes tanto hidrófobas como hidrofílicas que tienen como función capturar radicales libres y generar moléculas menos nocivas para la célula. Dentro de este grupo se destacan las vitaminas C y E, compuestos de selenio y polifenoles. Asimismo, se ha percibido que el aumento o disminución en los niveles intracelulares de grupos -SH, origina cambios paralelos en la supervivencia celular.

La Vitamina C se encuentra a nivel intra y extracelular en la forma de ácido ascórbico (especie reducida), actúa directamente sobre los radicales superóxido, hidroxilo y algunos hidroperóxidos lipídicos entregando electrones para generar especies más estables (Figura 5.6), a costas de su propia oxidación a ácido dehidroascórbico (especie oxidada).

Dentro de los polifenoles se encuentra un amplio grupo de compuestos que son capaces de capturar ROS. Pueden ser de tipo lipo e hidrosolubles y se ubican tanto intra como extracelularmente. Dentro de este grupo se encuentran la vitamina E, la vitamina A y la ubiquinona (coenzima Q), entre otros.

Figura 5.6. Sistema de defensa antioxidante no enzimático.



Radioprotectores

Los radioprotectores (RP) son todos aquellos compuestos capaces de reducir la toxicidad de las radiaciones. Si bien la RI se utiliza en radioterapia para el tratamiento del cáncer, ya sea con fines paliativos o curativos, la exposición a largo plazo causa efectos secundarios negativos en el cuerpo, como cáncer, enrojecimiento de la piel, disminución de la inmunidad y daño grave a los órganos y tejidos. Por tanto, desde el punto de vista clínico, es fundamental desarrollar RP específicos, que sean capaces de aminorar el daño sobre tejidos sanos sin ejercer acción citoprotectora sobre los tumores. Estos compuestos también son importantes en exposiciones radiantes no planificadas, como la radiación natural de fondo, viajes espaciales y desastres nucleares. Si bien numerosos compuestos químicos y biológicos están siendo examinados en todo el mundo, entre otras propiedades el RP ideal debe poseer toxicidad mínima o nula, preservar la eficacia antitumoral de la radioterapia, tener un amplio espectro de protección sobre tejidos sanos y órganos, tener un amplio rango de compatibilidad con otros fármacos.

Aminoácidos y otros compuestos

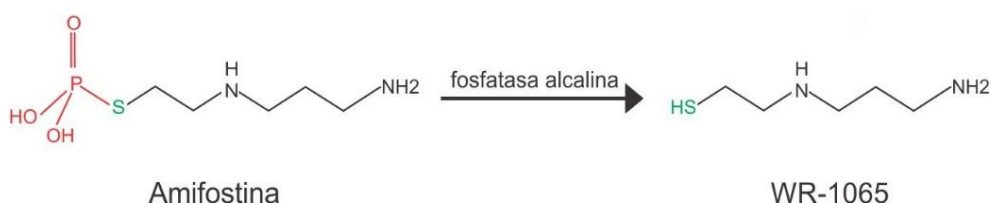
Desde hace tiempo los aminoácidos han sido estudiados como posibles RP, teniendo un papel importante la cisteína y las formas descarboxiladas de la cisteína (precursor del glutatión). Muchos compuestos similares con grupos sulfhidrilos (SH) han sido testeados y resultaron ser efectivos como radioprotectores. Los mecanismos implicados en la radioprotección mediada por SH incluyen principalmente:

1. Secuestro de radicales libres.
2. Donación de átomos de hidrogeno para favorecer la reparación de sitios de ADN dañados.

A pesar de que la Cisteína es un RP, es tóxico e induce náuseas y vómitos a las dosis requeridas para radioprotección. Así, en 1959, luego de la Segunda Guerra Mundial y dado los eventos ocurridos en Nagasaki e Hiroshima, la Armada de los Estados Unidos inició un programa para identificar y sintetizar drogas que fueran capaces de conferir protección a los individuos sometidos a radiación, pero sin la toxicidad de la cisteína. Uno de los primeros hallazgos fue que la toxicidad de los compuestos se reducía, si el grupo SH se cubría con un grupo fosfato. Una vez en la célula, el grupo fosfato es liberado y el SH comienza a secuestrar radicales libres (Figura 5.7). Uno de los compuestos más importantes desarrollados por este programa fue la amifostina, única droga radioprotectora aprobada por la FDA (U.S. Food and Drug Administration) para su utilización en radioterapia. El resto de los compuestos aprobados por este organismo como contramedidas para la radiación, se clasifican como radiomitigadores. La diferencia se basa en que los radioprotectores reducen el daño directo causado por la radiación y los radiomitigadores, minimizan la toxicidad después de que se haya administrado la radiación. Por otro lado, si bien el énfasis en el desarrollo de la amifostina se basó en proteger a los tejidos sanos de la muerte

celular causada por la irradiación, esta droga además previene la carcinogénesis radioinducida en células en cultivo y en modelos de ratón. Asimismo, su eficacia fue demostrada para disminuir la xerostomía en pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a radioterapia, sin perjudicar el control tumoral. Se ha propuesto que la amifostina es capaz de estabilizar los sitios de daño en el ADN facilitando una reparación más lenta y libre de error. No obstante, este compuesto posee desventajas tales como limitadas rutas de administración, ventanas de administración estrechas, alto costo y acotada protección de los órganos. Del mismo modo, concedido en rangos de dosis operativas ocasiona efectos secundarios graves como vómitos, náuseas, diarrea, nefro y neurotoxicidad. Para superar estas limitaciones, se están realizando estudios de compuestos de origen natural con el objetivo de identificar agentes nuevos, efectivos y no tóxicos.

Figura 5.7. Activación de amifostina mediada por enzima.



Mecanismos de acción de los radioprotectores

Para analizar los mecanismos de acción de los RP, se deben tener en cuenta los efectos biológicos de las RI, tales como el daño al ADN, la generación de radicales libres y el resultante estrés oxidativo y muerte celular. Por tanto, la actividad radioprotectora involucra principalmente vías bioquímicas, regulando así los genes de reparación del ADN y del daño celular, el secuestro de radicales libres y disminución del estrés oxidativo, la inhibición de la apoptosis permitiendo la repoblación de tejidos dañados. Además, muchos productos también tienen propiedades radiosensibilizantes en células cancerosas. Esta propiedad es una ventaja añadida para su aplicación en radioterapia para pacientes oncológicos.

En relación con lo mencionado previamente en este capítulo, el uso de suplementos dietarios con antioxidantes tiene un rol radioprotector. En tal sentido, se ha demostrado que suplementos de vitamina E mejoran la supervivencia de ratones inoculados intramuscularmente que han sido sometidos a tratamiento radiante, así como también se ha observado en humanos. El selenio, que se encuentra en el ajo, brocoli, granos y legumbres, protege contra la mutagénesis radioinducida *in vitro* e inhibe también su transformación celular. Otros metales sobre los que se está investigando el poder radioprotector son el hierro, el cobre y el cinc.

Por otro lado, la actividad antihemética, antiinflamatoria, inmunomoduladora, estimuladora del sistema hematopoyético y antioxidante son algunos de los mecanismos por los cuales algunos extractos de plantas actúan frente a las radiaciones ionizantes. Compuestos aislados de diferentes extractos como los polifenoles, carotenoides, flavonoides, terpenos, curcumina, quercetina, licopenos, xantinas, melatoninas, entre otros, han sido propuestos como RP. Su capacidad para

proteger contra las radiaciones ionizantes se atribuye principalmente a su habilidad de secuestrar radicales libres. Los flavonoides proveen una protección significativa para evitar las aberraciones cromosómicas y la letalidad en ratones, cuando son administrados a dosis no tóxicas antes de la exposición a la radiación. Su efecto protector ha sido relacionado con su propiedad antioxidante. La isoflavona genisteína, presente en la soja, tiene grandes potencialidades anticarcinogénicas y ha demostrado un efecto radioprotector en ratones inoculados 24 horas antes de su exposición a rayos gamma. La administración de múltiples dosis orales de este compuesto reforzó la protección contra la letalidad inducida por las radiaciones.

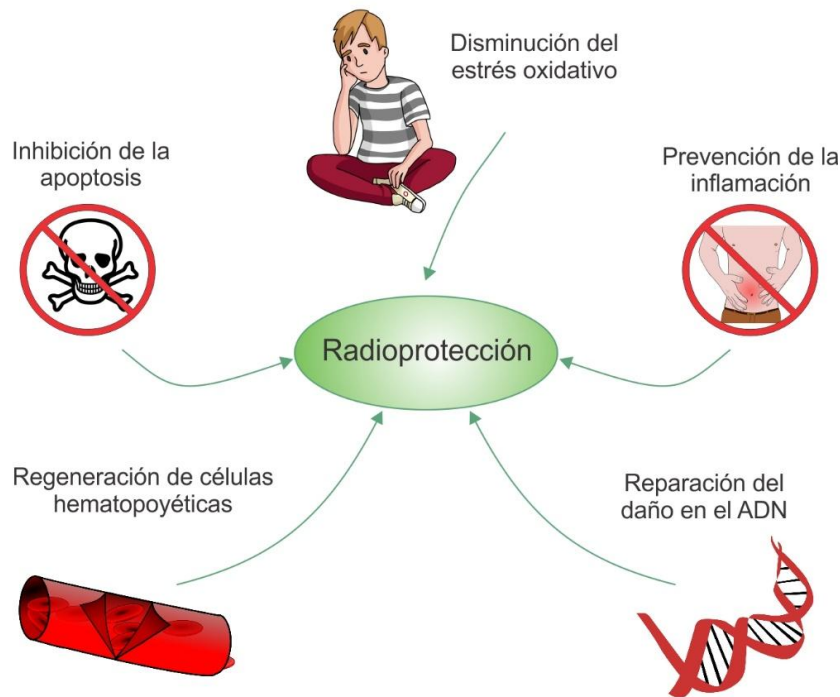
En resumen, las principales propiedades de los RP deben ser:

1. **Antioxidante:** Los agentes que tienen la capacidad de prevenir la formación y/o eliminar las especies reactivas inducidas por radiación pueden funcionar como RP. Algunos agentes interfieren con la distribución del oxígeno en los tejidos irradiados mediante la inducción de hipoxia local (Ej: compuestos sulfhidrilos, RSH). Otros promueven el incremento de enzimas antioxidantes y/o el secuestro de radicales libres (Ej: curcumina, apigenina, licopeno, hesperidina, sesamol, resveratrol, glutatión)
2. **Antiinflamatorio:** La RI es indirectamente tóxica al activar una respuesta inmunitaria, y los pacientes que se someten a radioterapia suelen sufrir una inflamación generalizada. Consecuentemente, es importante aliviar los efectos secundarios asociados con la inflamación, y algunos productos naturales y sus ingredientes activos pueden lograrlo a través de la actividad antiinflamatoria (Ej: curcumina, apigenina, licopeno, hesperidina, resveratrol).
3. **Antiapoptótico:** Las RI son capaces de inducir la apoptosis, es decir, que las células dañadas sufren muerte programada. Un agente que inhibe la apoptosis y repara el ADN puede ser un excelente RP. En tal sentido, varios fármacos y compuestos vegetales tienen la capacidad de activar genes antiapoptóticos e inhibir a los proapoptóticos (Ej: fucoicdan, genisteína, hesperidina).
4. **Favorecer la reparación del ADN y la recuperación celular:** Algunos RP son capaces de estabilizar las macromoléculas protegiéndolas de la radiación (Ej: espermidina y espermina pueden interactuar con el ADN). Por otro lado, ciertos compuestos pueden regular vías moleculares y mecanismos de reparación que se activan por el daño del ADN radioinducido. Las enzimas que sintetizan precursores de ADN, como la ribonucleótido reductasa, también tienen un papel importante en su reparación, dado que concentraciones celulares más altas de estas moléculas indispensables, pueden crear un entorno celular radioprotector. Por lo tanto, los fármacos y productos químicos que estimulan la actividad de las enzimas sintetizadoras de precursores pueden funcionar como RP. Entre los compuestos que favorecen la reparación del daño en el ADN se pueden destacar la curcumina, la apigenina, el sesamol, el resveratrol y el glutatión.
5. **Regenerar células hematopoyéticas:** La RI daña los tejidos hematopoyéticos y disminuye las plaquetas y el recuento de neutrófilos. Esta reducción puede provocar anemia, hemorragia, septicemia, trombocitopenia e incluso la muerte. Para proteger las células del daño inducido por RI, las células progenitoras hematopoyéticas deben estimularse, mantenerse

y proliferar desde la médula ósea hasta la sangre periférica. En general, se sabe que la mayoría de los polisacáridos derivados de plantas, ejercen una eficacia radioprotectora al actuar como inmunoestimulantes, induciendo la proliferación de células hematopoyéticas y la secreción de varias citosinas (Ej: fucoidan, acemannan, β -glucano ginsan). Existen otros agentes naturales, que no son polisacáridos sino compuestos fenólicos, que poseen similares propiedades (Ej: sesamol, genisteína, hesperidina).

En la práctica clínica, los radioprotectores no se utilizan tan ampliamente como se esperaría, esto se debe a que sus ventajas se pueden ver ensombrecidas por argumentos relacionados con la posible protección del tumor y la pérdida de la ganancia terapéutica. Por tanto, es necesario robustecer las investigaciones en este área para obtener un conocimiento más acabado de los posibles efectos de las sustancias propuestas como posibles RP.

Figura 5.8. Propiedades de los RP.



Referencias

- Benderitter M, Vincent-Genod L, Pouget JP, Voisin P. (2003). The cell membrane as a biosensor of oxidative stress induced by radiation exposure: a multiparameter investigation. *Radiat Res.* 159(4):471-83.
- Corre I, Niaudet C, Paris F. (2010). Plasma membrane signaling induced by ionizing radiation. *Mutat Res.* 704(1-3):61-7.

- Dowlath MJH, Karuppannan SK, Sinha P, Dowlath NS, Arunachalam KD, Ravindran B, Chang SW, Nguyen-Tri P, Nguyen DD. (2021). Effects of radiation and role of plants in radioprotection: A critical review, *Science of The Total Environment*. 779: 146431
- Haimovitz-Friedman A, Kan CC, Ehleiter D, Persaud RS, McLoughlin M, Fuks Z, Kolesnick RN. (1994). Ionizing radiation acts on cellular membranes to generate ceramide and initiate apoptosis. *J Exp Med*. 180(2):525-35.
- Halliwell B, Gutteridge J. (2000). *Free radicals in Biology and Medicine*. Tercera edición. Oxford, New York.
- Halliwell B. (1997). Antioxidants: The Basis – What they are and how to evaluate them. En: *Antioxidants in deeseases: Mecanismos and therapy*. SIES. Academic Press. California.
- Juan JY, Zhu JQ, Zhao CZ, Kang Q, Zhang X, Suo K, Cao N, Hao L, Lu J. (2021). Potential of natural products as radioprotectors and radiosensitizers: Opportunities and challenges. *Food Funct*. 12: 5204-5218
- Larkins N. (1999). Free radical biology and pathology. *J Equine Vet Sci*. 19: 84-89.
- Lehnert S. (2007). *Biomolecular Action of Ionizing Radiation* (1st ed.). CRC Press.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 4(8), 118-126.
- Morgan M. (2012). Estresse oxidative e antioxidantes. En: *Radicais livres no proceso saude – doenca da bancada a clinica*. Curitiba- PR (Brasil).
- Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. (2018). Pharmacology of natural radioprotectors. *Arch. Pharm. Res*. 41: 1033-1050.
- Olinescu R, Kummerow F. (2001). Fibrinogen is an efficient antioxidant. *J Nutr Biochem*. 12: 162- 169.
- Poole LB and Nelson KJ. (2008). Discovering mechanisms of signaling-mediated cysteine oxidation. *Curr Opin Chem Biol* 12: 18-24.
- Power S, Lennon S. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*. 58: 1025-1033.
- Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 266: 4244-4250.
- Rivera Sánchez E. (2010). Radioprotectores. *Radiobiología*. 10: 225-229
- Saurin AT, Neubert H, Brennan JP, Eaton P. (2004). Widespread sulfenic acid formation in tissues in response to hydrogen peroxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 17982-17987.
- Stark G. (1991). The effect of ionizing radiation on lipid membranes. *Biochim Biophys Acta* 1071: 103-122.
- Ugartondo V. (2009). Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Universitat de Barcelona. Facultad de farmacia.
- Wani R, Qian J, Yin L, Bechtold E, King SB, Poole LB, Paek E, Tsang AW, Furdui CM. (2011). Isoform-specific regulation of Akt by PDGF-induced reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108: 10550-10555.

- Wong-ekkabut J, Xu Z, Triampo W, Tang IM, Peter Tieleman D, Monticelli L. (2007). Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study. *Biophys J.* 93: 4225-4236.
- Hall, EJ and Giaccia AJ. (2012). Radioprotectors. Hall, EJ and Giaccia AJ. *Radiobiology for the Radiologist*. Seventh Edition. pp 129 - 134. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.

CAPÍTULO 6

Efectos de la radiación ionizante en el individuo

Alba Güerci

Figura 6.1. *Aspetti di vita quotidiana, vomito, Tacuino Sanitatis, Ca. Maestro desconocido.*



Nota. Fuente: Dominio Público.

Introducción

Como hemos visto, las lesiones celulares inducidas por radiación, en caso de no repararse correctamente derivan en efectos cardinales como la mutación o la muerte celular, que son la base de las secuelas observadas a nivel del organismo. Según el evento, el resultado será diferente para el individuo. Por un lado, puede suceder que cuando se supera cierto nivel de dosis, se muera un gran número de células que lleva a la pérdida funcional del tejido. Esto constituye un *Efecto Determinista*, cuya probabilidad de ocurrencia y gravedad aumenta por encima de un umbral hasta su valor máximo (100%), pero es nula por debajo de este valor. Por otro lado, puede suceder que las células irradiadas sobrevivan, pero con cambios en el genoma, dando lugar a *Efectos Estocásticos*, de naturaleza aleatoria. Si la célula que porta la mutación es un gameto, podrá transmitirse a la descendencia del individuo, dando lugar a un *efecto hereditario*. Si en cambio, la mutación sucede en una célula *somática* la consecuencia podría ser la *carcinogénesis*. La probabilidad de ocurrencia de estos efectos estocásticos es función de la dosis; no presentan umbral. No obstante, la gravedad no guarda relación alguna con el nivel de exposición (Figura 6.2).

Figura 6.2. Representación gráfica de la ocurrencia de efectos determinísticos y estocásticos.

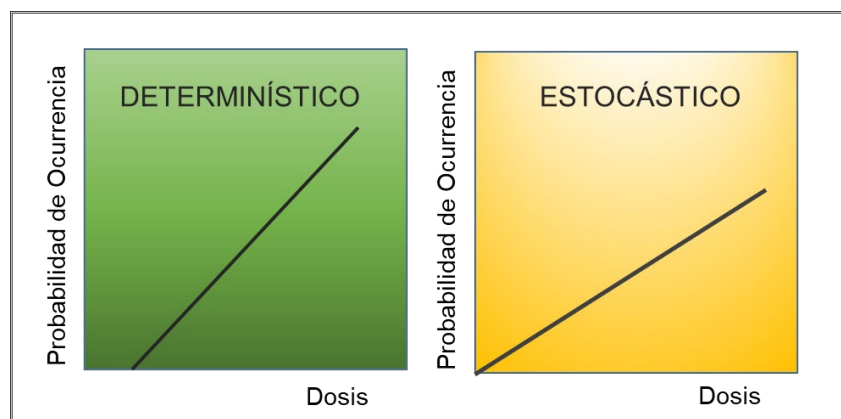


Tabla 1.6. Fundamentos celulares de los efectos radioinducidos a nivel del individuo.

TIPO DE EFECTO	NIVEL INDIVIDUO	NIVEL CELULAR
DETERMINÍSTICO	Disfunción del tejido u órgano. Síndrome Agudo de Radiación	Muerte: apoptosis, necrosis, etc.
ESTOCÁSTICO	Cáncer, problemas hereditarios, defectos congénitos	Mutaciones

Efectos Deterministas

A partir de experimentación en animales y de información obtenida de las exposiciones de Hiroshima, Nagasaki, como así también del accidente de Chernobyl, se pudieron describir los eventos que suceden luego de la exposición a dosis altas de radiación ionizante. Estos efectos se producen cuando todo el cuerpo o parte de él, se expone a dosis de radiación que inducen la muerte de un número de células, que no puede restituirse por la proliferación de las células vivas. Esta pérdida celular puede deteriorar la función de un órgano o tejido y derivar en un escenario clínico crítico. Estas dosis se alcanzan cuando se supera un umbral, que ha sido establecido en el valor necesario para inducir el efecto en al menos el 1 - 5% de los individuos expuestos. Tanto la gravedad de estos efectos como su frecuencia varían en función de la dosis.

Según la forma de exposición externa o interna, instantánea o prolongada, los efectos pueden alcanzar a todo el organismo o sólo a una zona. En la sobreexposición total, la insuficiencia de órganos vitales puede derivar en la letalidad. La disfunción se hará evidente, según la cinética de recambio celular del tejido afectado. De esta manera, se entiende la razón por la cual diferentes órganos expresan insuficiencia en distintos rangos de dosis. El abordaje de estos efectos considera la distribución espacial y temporal de la dosis sobre el cuerpo, como se describe a continuación.

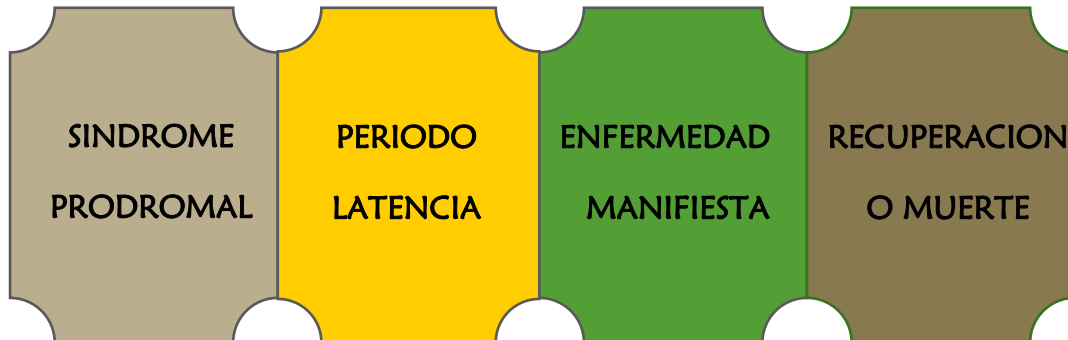
Síndrome Agudo de Radiación (SAR)

La respuesta del organismo ante una exposición aguda (minutos), involucra signos y síntomas particulares dentro de un cuadro clínico que se conoce como *Síndrome Agudo de Irradiación* (SAR). Según la dosis recibida en todo el cuerpo, se pueden distinguir tres formas de este cuadro: Hematopoyética, Gastrointestinal y Neurológica.

Generalmente, luego del episodio de exposición, en minutos u horas siguientes, aparecen ciertos síntomas que duran sólo unos días. Esta etapa denominada *Prodrómica*, es seguida por un período de *latencia* sin síntomas, que puede durar desde algunas horas a varias semanas. Luego surgirá la fase aguda final, potencialmente letal. En ella se manifiestan diversos síntomas, vinculados a trastornos hematopoyéticos, gastrointestinales, cutáneos y cerebrovasculares. La sobrevida y el modo de perecer, dependerá de la dosis recibida. Se identificaron tres formas de muerte que pueden superponerse. A exposiciones muy altas (alrededor de 100 Gy), el deceso ocurre entre las 24 y 48 horas posteriores, por disrupción neurológica y cardiovascular (*Síndrome Cerebrovascular*). A niveles intermedios (5 a 12 Gy), la defunción ocurre sobre los 9 o 10 días y está asociada a diarrea profusa y sangrienta y destrucción de la mucosa gastrointestinal (*Síndrome Gastrointestinal*). Finalmente, a dosis más bajas (2,5 a 5 Gy), el fallecimiento ocurre desde semanas a un par de meses luego de la exposición y es causado por efectos sobre los órganos formadores de sangre (*Síndrome Hematopoyético*). Se produce una depleción de las *stem cells* de tejidos autorrenovables críticos, como el epitelio intestinal y células sanguíneas circulantes.

Las diferencias de dosis y tiempo reflejan las variaciones en la cinética de renovación celular entre los sistemas involucrados y la cantidad de daño tolerable antes de la muerte.

Figura 6.3. Etapas del Síndrome Agudo de Radiación.



Fase Prodrómica

El tiempo de presentación de síntomas característicos así como su severidad y duración, varían con la dosis recibida. Con algunas decenas de Gy, se espera que aparezcan síntomas a los 5-15 minutos y hasta los 30 minutos. El cuadro permanecerá unos días pero irá disminuyendo gradualmente en intensidad hasta llegar al Síndrome Cerebrovascular, o en dosis más bajas al Gastrointestinal, ambos fatales. A dosis más bajas, las predicciones son difíciles por la interacción entre muchos factores. Una fase prodrómica severa indica pronóstico y anuncia al final un período prolongado de aplasia hematológica aguda, acompañado por infecciones potencialmente fatales, anemia y hemorragia. La duración de esta fase es inversamente proporcional a la dosis y puede durar desde pocas horas hasta dos o más semana. Su ausencia y avance hacia etapas siguientes puede indicar que se recibió una dosis muy alta.

Los signos y síntomas de este período, pueden ser gastrointestinales y neuromusculares. Los primeros involucran: anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, constipación, salivación, pérdida de fluidos, deshidratación y pérdida de peso. Los segundos incluyen: fatiga, apatía, sudoración, fiebre, cefaleas e hipotensión. También se ha visto vértigo, taquicardia, irritabilidad e insomnio. Esta fase continúa con un período sin síntomas, donde el paciente puede sentirse bien.

El diagnóstico del SAR puede realizarse mediante datos de laboratorio, por conteo de linfocitos circulantes (sensibilidad: hasta 0,5 Gy), cuya descenso es útil para determinar el nivel de exposición de manera temprana. Asimismo, el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales en estas células, es el ampliamente aceptado y confiable para dosimetría biológica y su implementación se ha establecido en laboratorios de protección radiológica de diferentes países. Su límite de detección es de 0,2 Gy para rayos X o gamma.

Tabla 2.6. *Síndrome Agudo de Radiación. Signos y síntomas esperables.*

Signos y síntomas a ser esperados para dosis cercanas a la DL ₅₀	
Neuromuscular	Gastrointestinal
Fatiga	Anorexia, Náuseas, Vómitos
Signos adicionales esperados para dosis superiores	
Fiebre, Hipotensión	Diarrea inmediata

Síndrome Cerebrovascular

Una dosis de cuerpo entero de 100 Gy de rayos X (o su equivalente de neutrones), ocasiona la muerte en uno o dos días. El síndrome puede desatarse a dosis mayores a 50 Gy, con una fase prodrómica rápida y corta. La latencia también es breve y sobre las 4-6 horas desde la irradiación, aparece la fase final con sintomatología neurológica y progresando hasta la muerte.

En este nivel de dosis, todos los sistemas orgánicos se dañan severamente. El daño en el sistema cerebrovascular que lleva a la muerte rápida, impide que la falla en otros sistemas llegue a expresarse. Los síntomas varían con la dosis; se observa náusea severa, vómitos y en minutos, síntomas psíquicos como desorientación, irritabilidad, pérdida de coordinación muscular, problemas respiratorios, diarrea, convulsiones, coma y finalmente la muerte. Si bien no puede precisarse su causa exacta, la muerte inmediata por este síndrome se atribuye a eventos que suceden en el SNC. Se presume que el daño a la microvasculatura, que exagera la permeabilidad vascular, ocasiona aumento de fluido cerebral y de la presión endocraneal, con edemas y hemorragia.

Un ejemplo de este cuadro es el accidente nuclear de Los Álamos (1958), donde un trabajador recibió una dosis entre 39 y 49 Gy de neutrones y rayos gamma (con zonas expuestas a más de 120 Gy). A pocos minutos del accidente, entró en estado de shock e inconsciencia y murió 35 horas después de ocurrido el episodio.

Síndrome Gastrointestinal

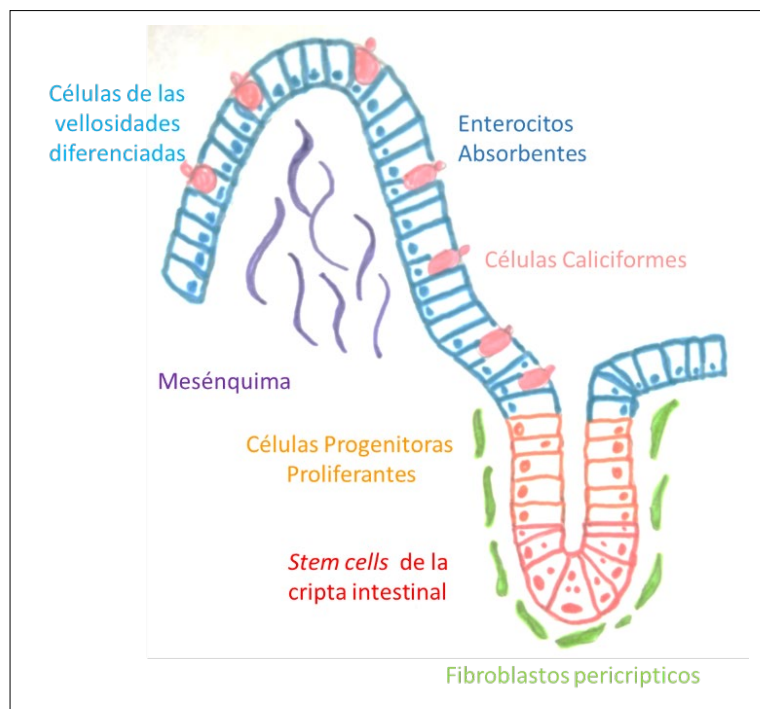
Los síntomas característicos se dan luego de la exposición de todo el cuerpo a dosis entre 6 y 10 Gy de rayos X (o su equivalente en neutrones) y constituyen náuseas, vómitos, diarrea, anorexia, letargia y lentitud. La diarrea prolongada por varios días, es indicativa de una dosis mayor a 10 Gy, inevitablemente fatal. No hay registros de sobrevivida a dosis mayores o iguales a 10 Gy. Desde el día 2 al 5 post-irradiación dura la fase latente. En la enfermedad manifiesta, vuelven a aparecer náuseas, vómitos y diarreas con fiebre. Se observan signos de pérdida de peso, agotamiento extremo y finalmente el fallecimiento entre los 3-10 días posteriores a la exposición. La sintomatología se debe a la lesión del tramo gastrointestinal y en parte a la de la médula ósea. El intestino delgado pierde su mucosa y se da un cuadro de mala absorción, pérdida de líquidos, proteínas y electrolitos, surgiendo deshidratación y hemorragias intestinales. Se favorece la infección generalizada por los gérmenes del intestino, sobre todo, si hay leucopenia por afección de la médula ósea y depresión inmunitaria.

Los síntomas y la muerte por este síndrome, se atribuyen a la pérdida de la capacidad de repoblación del epitelio de recubrimiento gastrointestinal. Este epitelio es un tejido autorrenovable

compuesto de *stem cells*, células proliferantes y células maduras funcionales. En las criptas intestinales más profundas están las células que se dividen, suben a las vellosidades y se diferencian como células funcionales (Figura 6.4). En la parte superior de las vellosidades, las células se desprenden con frecuencia y son reemplazadas por las originadas en las criptas. Una capa de sólo una célula de espesor, separa los vasos sanguíneos del contenido del intestino. Una dosis de 10 Gy, esteriliza una gran proporción de estas células en división de la cripta, pero afecta poco a los compartimentos de células diferenciadas y funcionales. Como las células que mantienen a los otros compartimentos son las que se mueren, no pueden reemplazar a las que se pierden y el intestino pierde las vellosidades en pocos días. La tasa de pérdida depende de la dosis. En el momento de la muerte, las vellosidades son planas y casi sin células (erosión del epitelio intestinal).

Las personas que desarrollan este síndrome, reciben una dosis mayor a la necesaria para desarrollar el Síndrome Hematopoyético y la muerte ocurre antes de que pueda expresarse el efecto sobre este sistema (por la diferencia en la cinética de depleción). Esta forma del SAR, se observó en bomberos de Chernobyl quienes fallecieron días después del accidente.

Figura 6.4. Epitelio de recubrimiento gastrointestinal.



Síndrome Hematopoyético

La exposición a dosis de 2,5 a 5 Gy involucra la muerte, si ocurre daño irreversible al sistema hematopoyético. La radiación elimina a las células precursoras mitóticamente activas y así disminuye el reemplazo de células maduras, rojas, blancas y plaquetas. Estos elementos circulantes alcanzan un valor mínimo en algunas semanas, cuando comienzan a morir y el suministro desde la población precursora devastada, es inadecuado para reemplazarlas.

La fase prodrómica surge a pocas horas, con vómitos, náuseas y diarreas. Luego de una latencia que varía según la dosis (desde días hasta tres semanas), se manifiesta este síndrome con marcada leucopenia y disminución de plaquetas. La inmunidad deprimida lleva a infecciones graves y fiebre. Asimismo habrá hemorragias por trastornos de la coagulación, agravando la anemia dada por la lesión medular. El cuadro clínico se acompaña de escalofríos, fatiga, petequias, úlceras bucales y también puede aparecer depilación. Si las dosis son menores a 3Gy la médula puede regenerarse y hacia la quinta semana comenzar la recuperación. Dosis mayores conducen a la muerte en 2-6 semanas. Este cuadro se vio en operarios y bomberos en Chernobyl, expuestos a más de 1 Gy. Mientras que algunos no pudieron recuperarse, muchos lograron sobrevivir con cuidado médico.

Con objeto de poder comparar los efectos letales de distintos niveles de dosis, se suele utilizar el concepto de dosis letal porcentual en función del tiempo, con una notación de la forma DL 50/30 que significa la dosis letal necesaria para matar al 50% de la población expuesta al cabo de 30 días. La DL 50/30 está en el orden de los 2,5 a 3 Gy para el hombre (irradiación a cuerpo entero). Si bien dentro de una población hay muchos factores que influyen, el pico de muerte ocurre a los 30 días, pudiendo continuar hasta el doble de tiempo (DL 50/60).

Síndrome cutáneo radioinducido (SCR)

Algunas radiaciones de poca penetración como las partículas Beta o los fotones de baja energía, pueden depositar exceso de dosis sólo superficialmente e inducir lesiones cutáneas pero sin desencadenar SAR. El *Síndrome Cutáneo Radioinducido* refiere a efectos sobre la piel, que comprometen su función como barrera física e inmunológica. Estas quemaduras se diferencian de las térmicas o químicas en el retraso en su manifestación y la desintegración tisular recurrente, aún hasta luego de la formación de escaras o cicatrices. El síndrome comprende la afección de la proliferación celular junto con procesos inflamatorios; representa la falla de la regeneración tisular durante el proceso de cicatrización normal. Según la dosis recibida, el daño se presenta en horas o semanas y se puede exteriorizar secuencialmente en forma aguda como picazón u hormigueo, eritema, edema, descamación seca y húmeda, seguida o no por lesiones crónicas como necrosis, úlceras, cambio en la pigmentación y fibrosis. También puede observarse depilación e infecciones crónicas o recurrentes. El umbral para eritema es cerca de 6 Sv. Para dosis superiores a 10 Sv, el daño empeora progresivamente hacia descamación seca y luego húmeda, ampollas, ulceración y finalmente necrosis. En relación, las personas afectadas por accidentes o exposiciones médicas (radioterapia o radiología intervencionista) padecen de una calidad de vida disminuida.

Figura 6.5. Síndrome Cutáneo Radioinducido.



Nota. Cuadro debilitante similar a quemaduras de segundo grado. Gentileza Dra. Mercedes Portas.

Si bien el proceso es progresivo, su evolución varía según el individuo y depende de varios factores, como la susceptibilidad genética y presencia de comorbilidades. Se ha visto que los indicadores del proceso inflamatorio podrían ser marcadores potenciales para el seguimiento de esta patología, aportando información complementaria para el abordaje del paciente. El reclutamiento y extravasación de leucocitos circulantes, determina el inicio y progresión de la reacción inflamatoria y es organizado por moléculas de adhesión (ICAM-1 y β 1 Integrina) expresadas por estas células y células endoteliales. Se ha podido comprobar una expresión significativamente aumentada de β 1 Integrina en linfocitos de los pacientes con SCR respecto de un grupo control, con mayor expresión en paciente con lesiones más graves, respecto de aquellos con sintomatología leve. Asimismo, también en estos individuos se observó una alteración en la homeostasis de los linfocitos T (CD4+/ CD8+), cuya frecuencia aumentada se ha visto en varios desórdenes inflamatorios y se determinó un aumento significativo en los niveles plasmáticos de la PCR (Proteína C Reactiva), marcador de fase inflamatoria aguda.

Efectos deterministas localizados

La respuesta que puede suceder luego que un órgano o tejido en particular haya sido expuesto a una dosis determinada de radiación, dependerá en gran parte de cuanto pueda tolerar. Será decisivo el nivel de pérdida celular y la capacidad de recuperación inherente al tejido. Así se entiende que hay un volumen crítico y una organización celular responsables de la disfunción tisular.

Comenzando por el órgano más grande del cuerpo, los efectos de la irradiación de la piel, dependen tanto de la dosis recibida como del área y profundidad alcanzada. La severidad respeta la escala de quemaduras comunes: eritema, edema, ampollas, úlceras, necrosis y esclerosis. A modo de ejemplo, considerando un área aproximada de 3 cm de diámetro,

puede observarse eritema en exposiciones de 3 a 10 Gy, radio-dermitis (seca – exudativa) a partir de los 10-15 Gy y hasta los 25 Gy y finalmente necrosis a dosis que superan los 25 Gy. Cabe aclarar que si el área es menor se toleran dosis más altas, lo mismo que si se administran de manera fraccionada.

Por otra parte, uno de los tejidos más radiosensibles es el hematopoyético. A partir de 0,5-1 Gy se pueden advertir cambios. Como información para la exposición ocupacional, se estima una dosis umbral mayor a 0,4 Sv/año para detectar depresión en la hemopoyesis, y mayor a 1 Sv/año para inducir aplasia medular letal. Bajo otra perspectiva, se evidenció reducción de leucocitos hasta algunos años después del tratamiento radiante de mama (Dosis total: 50 Gy).

En cuanto a la vulnerabilidad del sistema digestivo, la zona más radiosensible es el intestino delgado. Dosis superiores a 10 Gy en un área grande pueden ser letales, con síntomas como diarrea, dispepsia, úlcera, estenosis y obstrucciones. Asimismo, como producto de la fibrosis inducida, también pueden manifestarse efectos tardíos, luego de meses o años desde la exposición, en forma de obstrucciones, constricciones, adherencias y hasta perforaciones y fístulas. Al mismo tiempo, ha sido observado que la función renal puede reducirse con dosis de 20 Gy administrados durante 3-4 semanas, con cambios en la hipertensión arterial.

En el tórax, el órgano más sensible a la radiación es el pulmón. Luego de su exposición, se puede desarrollar neumonitis y posteriormente fibrosis. El volumen irradiado es importante, en tanto si se ve afectado gran parte de él, la neumonitis puede ser letal. Para exposiciones agudas los valores de la DL_{50} son 8 - 10 Gy y para exposiciones fraccionadas suben a 20 - 30 Gy. Por otra parte, el corazón no es considerado como un órgano radiosensible. No obstante, 40 Gy administrados de manera fraccionada, puede inducir degeneración miocárdica y más de 60 Gy derrame pericárdico letal. En estos niveles de dosis, también se van produciendo cambios que llevan al estrechamiento de los vasos y reducción de la irrigación.

En lo que respecta a las gónadas, el ovario es muy radiosensible. Exposiciones únicas de 2-6 Gy producen esterilidad temporal. Estos valores suben cuando la exposición es fraccionada. Para los testículos, dosis de 0,1 - 0,15 Gy producen esterilidad temporal y permanente cuando son mayores a 6 Gy.

En el caso del sistema nervioso, dada su poca capacidad de repoblación se re-consideró su categorización como radioresistente. El cerebro puede llegar a resistir la exposición fraccionada de 55 Gy. La médula espinal menos (35-50 Gy); la lesión radioinducida será inversamente proporcional a la longitud de médula irradiada. Respecto a los órganos de los sentidos, especialmente el ojo, hay abundante evidencia que el cristalino es particularmente sensible a la irradiación. Una exposición cercana a 1 Gy, o de lo contrario 4 Gy administrados de manera fraccionada, pueden derivar con la formación de cataratas. Del sistema endócrino, se destaca la radioresistencia tanto estructural como funcional de la tiroides. No obstante, el hipotiroidismo es el efecto determinístico tardío más frecuente.

Para finalizar, se refiere que los tejidos de soporte, tanto hueso como cartílago, son más sensibles en fases de desarrollo que en adultos (con escasa regeneración) y que suelen ser proclives al trauma e infección, luego de la irradiación.

Efectos Estocásticos

Figura 6.6. *Las manos del doctor Moore*. Diego Rivera.



Nota. <https://historia-arte.com/obras/las-manos-del-doctor-moore>

Carcinogénesis radioinducida

Como su nombre lo indica, la carcinogénesis es la sucesión de eventos que conducen al surgimiento de un cáncer. Bajo este nombre se reúne a un grupo de patologías que si bien afectan a distintos órganos, presentan como elemento común el crecimiento celular ilimitado, invasivo y potencialmente letal. Su origen es la afección del ciclo celular, como consecuencia de anomalías genéticas, que modifican la producción y función de diversas proteínas. Desde el punto de vista clínico es un proceso complejo, que se evidencia luego de una serie de cambios ocurridos a lo largo de un tiempo prolongado, denominado período de latencia.

El riesgo de cáncer por exposición a radiaciones ionizantes (RI) ha sido reconocido casi desde el comienzo de su uso con fines médicos, estableciendo una dualidad costo - beneficio, que constituye el motivo cardinal de la Protección Radiológica. A partir de estudios desarrollados en modelos *in vivo* y fundamentalmente del análisis de sobrevivientes de la tragedia de Hiroshima y Nagasaki, como también de individuos expuestos por motivos médicos, se han identificado factores que influyen en este proceso. De esta manera, se entiende a la radiocarcinogénesis como un fenómeno estocástico, en el cual las RI como agentes inductores, tienen la capacidad de inducir mutaciones, aún a dosis bajas.

Si bien el aumento de la tasa de mutación puede ser el inicio de la evolución carcinogénica, la fuerza y diversidad de los mecanismos de defensa del organismo también son clave. Además de las lesiones celulares inducidas por la radiación, el control de la proliferación celular, la vigilancia inmune y la presión del microambiente juegan un papel fundamental. De esta manera, hoy en día se concibe más significativo el rol del estroma que los propios cambios de la célula iniciada, en tanto controla su progreso y devenir. En adición, algunas patologías de base pueden influir sobre el destino celular, como así también mutaciones en genes de reparación o apoptosis (ejemplo p. 53), que aumentan sustancialmente el riesgo. Atento a esto, entendemos que la unidad funcional de la radiocarcinogénesis es el tejido. Esto implica, células irradiadas, células no irradiadas y el entorno. Histológicamente, cada célula inserta en un microambiente es parte de una red, donde interactúa permanentemente con células del mismo o diferente tejido. Estas interacciones condicionan la detención o expansión de la proliferación tumoral. Así, una célula irradiada rodeada de células intactas, en ausencia de promotores quedará latente o no proliferará. Entre las señales que establecen la evolución carcinogénica, los factores implicados en estrés oxidativo, las citoquinas inflamatorias y particularmente TFG- β juegan un rol crucial. A modo de síntesis, las características habilitantes de este proceso se muestran en la Figura 6.3

La carcinogénesis generalmente lleva dos o tres décadas y puede ser entendida en tres etapas: una **iniciación**, donde se instauran mutaciones en genes que regulan el ciclo celular; una **promoción**, que puede transcurrir tiempo después y comprende la acción de diversos agentes que promueven la adquisición de nuevas mutaciones (hormonas, inflamación, etc.) y una **progresión**, que implica el inicio de la multiplicación celular. En término de mutaciones, se estima que son necesarios de 6 a 10 de estos cambios (algunas menos en leucemias), improbables sólo por azar, excepto si la proliferación celular es intensa o la inestabilidad genética alta. Asimismo, además de mutaciones y aberraciones cromosómicas, hay cambios epigenéticos (metilaciones de dinucleótidos CpG), que favorecen el desarrollo tumoral.

Figura 6.7. Rasgos distintivos del cáncer.



Nota. (Adaptado de *Hallmarks of cáncer. Hanahan D y Weinberg RA*)

Asimismo, en términos de radiocarcinogénesis, debemos considerar la protección ejercida por compuestos antioxidantes y la activación de vías de reparación o muerte celular (apoptosis, senescencia). Estos procesos difieren en su eficacia según la dosis, la cual influye en el número y complejidad de las lesiones radioinducidas. Con el aumento de la dosis o su tasa, aumenta el daño genotóxico y es más difícil de resolverlo; ya sea por interferencia entre los sistemas de reparación activados simultáneamente, o porque si hay muchas lesiones próximas, aumenta la probabilidad de interacción entre ellas.

Por otra parte, experimentos *in vitro* demostraron que dosis menores a 200 mGy, no alcanzan para activar la señalización e inducir la reparación del ADN. Se observó una baja frecuencia de mutación, en tanto las células lesionadas mueren o no se dividen. Dentro de este rango, al aumentar la dosis se activa la apoptosis eliminando células iniciadas y las que subsisten son controladas por las células sanas. La muerte celular se estabiliza entre 100-200 mGy para evitar desorganizar al tejido. Entre 0,2 y 1Gy disminuye la letalidad y toma lugar la reparación eficaz, que coexiste con la mutagénesis y “algo” de muerte celular, la cual será nuevamente disparada con el aumento de lesiones, por exposiciones mayores a 1Gy. La acumulación de mutaciones y la desorganización tisular ocasionada por muerte de las células, impulsan por homeostasis la proliferación celular (para sustituir células perdidas), favoreciendo el escape de la proliferación de células iniciadas. Estos mecanismos varían según tejido y estirpe tumoral. Asimismo hay que considerar que la eficacia del sistema inmune, depende no sólo de su status funcional, sino también de la edad alcanzada por el individuo. Habitualmente, la frecuencia de mutación es baja a dosis inferiores a 2 Gy, dado que células con ADN lesionado mueren o no se dividen. Y en general si hay reparación, el proceso es fiel a dosis y tasas bajas.

Asimismo, se ha sugerido que la exposición a dosis bajas disminuiría la frecuencia de cáncer, por estimulación de las defensas antioxidantes que reducen lesiones genotóxicas y también del sistema inmune, que elimina células dañadas. Esta respuesta conocida como **Hormesis**, si bien actualmente es tenida en cuenta, sigue siendo discutida.

Figura 6.8. Radio-carcinogénesis.



Nota. Si bien la mutación somática es importante en este proceso, hay otros cambios para comprender la adquisición del fenotipo tumoral, causados por la radiación y otros agentes. La inflamación puede ayudar a la ganancia de capacidades celulares distintivas, modificando el microambiente y promoviendo liberación de ROS, significantes para patogénesis tumoral (mutaciones).

De acuerdo a lo expuesto, entendemos que la radiocarcinogénesis es un fenómeno complejo (Figura 6.8). La relación dosis-efecto presenta una forma complicada, que varía según las especies y tejidos y es influida por la frecuencia espontánea de cada tipo de tumor. Si bien los datos aportados por experimentación animal e *in vitro* son valiosos, se debe cuidar extrapolar a nuestra especie, en tanto es un sistema diferente. La estimación más robusta del riesgo será la aportada por datos epidemiológicos, que consideran variables significativas como la estirpe tumoral, clase de radiación, dosis y tasa, edad, estatus inmunitario y toxicidad ambiental. Hasta el momento, el estudio más elocuente es el seguimiento de los sobrevivientes de los bombardeos de Hiroshima y Nagasaki (*Life Span Study*), que constituye el único acontecimiento en el que se irradió un número elevado de individuos y transcurrió un tiempo suficiente para poder detectar los efectos de las radiaciones. Si bien se están desarrollando estudios sobre Chernobyl, donde las dosis fueron más bajas, el período transcurrido aún es limitado para sacar conclusiones válidas. Hasta el momento ningún estudio a nivel poblacional pudo detectar el efecto carcinogénico de las dosis bajas de RI. Por lo tanto, para estimar su riesgo fue necesario realizar extrapolaciones a partir del estudio de mayor respaldo epidemiológico (*Life Span Study*).

La cohortes de Japón evidenciaron un exceso de muerte por cáncer, leve pero significativo, por la irradiación. Los cánceres más frecuentes fueron tiroides, mama, pulmón, estómago, colon

y leucemias. Una observación importante fue la influencia de la edad al momento de la irradiación. La infancia o adolescencia presentan mayor riesgo que los adultos, sobre todo para cáncer de tiroides y mama (Figura 6.8). En cuanto a la frecuencia de tumores sólidos se propuso una relación lineal dosis-efecto, pero carece de buen ajuste entre 0,005 y 2 Gy. En adición, el exceso de cáncer es significativo para dosis mayores a 100 mSv. Dosis mayores a 200 mSv aumentan las afecciones no tumorales.

Figura 6.9. Monumento a la Paz de los Niños. Parque conmemorativo de la Paz Hiroshima.



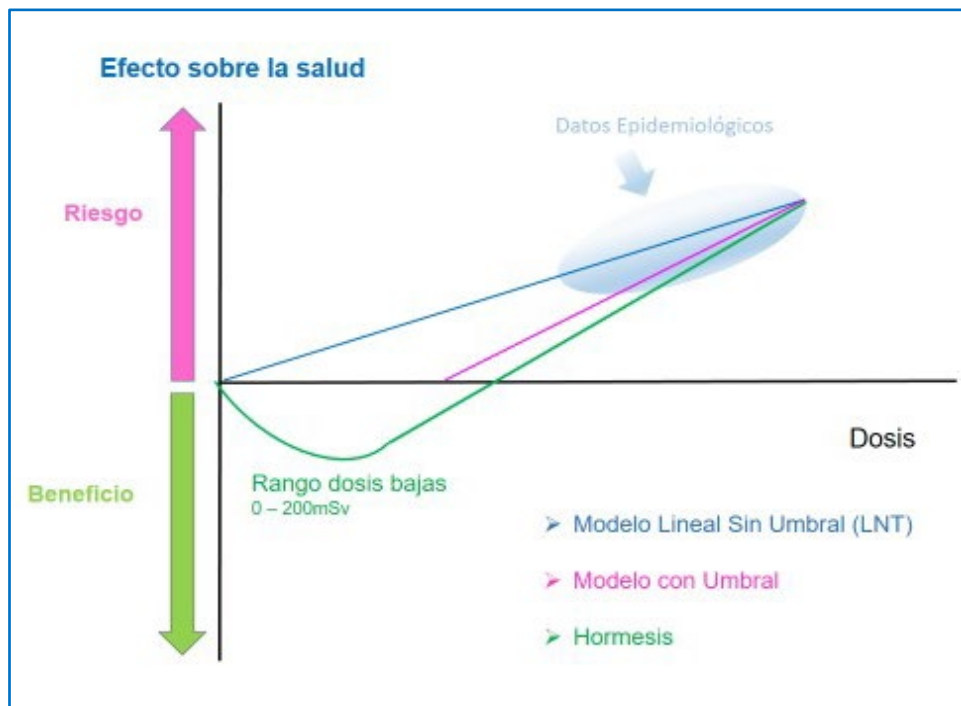
Nota. Construido gracias a fondos recaudados por alumnos y compañeros de una niña fallecida por leucemia, consecuente a la bomba atómica del 6 de agosto de 1945. Fuente: *HiroshimaPaperCranes6682.jpg*. Dominio Público

Atento a lo expuesto, en la actualidad, el modelo utilizado para la proyección del riesgo carcinogénico es el *Modelo Lineal sin Umbral* (LNT: del inglés Linear No Threshold), con base en las observaciones de las poblaciones japonesas antes mencionadas. El mismo asume que la respuesta biológica a la exposición a radiaciones es lineal, aún con dosis muy bajas y que no existe un umbral de dosis a partir del cual se produzcan efectos. Si bien fue adoptado por el organismo internacional de mayor experticia en el campo, la *ICRP (Comisión Internacional de Protección Radiológica)*, y otras instituciones pertinentes (OIEA, UNSCEAR, etc.), su validez en el rango de dosis bajas es discutida. Se argumenta que al no saber si los mecanismos biológicos que operan en estos niveles son similares a los que se inducen con dosis altas, se debería invalidar las extrapolaciones que fueron realizadas desde ellas. Mientras algunos sostienen que no hay evidencia que no existe un umbral, otros sugieren más correcta una relación curvilínea-lineal, tanto para tumores sólidos como para leucemias. Por otro lado, hay quienes sostienen que los efectos de las dosis bajas de radiación, se anulan mediante mecanismos de defensa en los que una respuesta adaptativa induce **hormesis** (efectos benéficos). El límite de la capacidad de defensa determinaría un umbral, más allá del cual surgirían los efectos adversos. La respuesta lineal cubriría sólo un rango de dosis

limitado. Finalmente, hay quienes sostienen que los efectos a dosis bajas de radiación son mayores de lo que asegura el modelo, en tanto hay mecanismos biológicos que amplificarían el daño, como es el caso de los efectos no centrados (“bystander”). No obstante y a pesar de todo lo expuesto, aún no hay evidencia robusta que posibilite reemplazar el LNT, y otorgar protección segura de las exposiciones radiantes.

El interés del LNT es otorgar una idea del riesgo máximo para dosis de 10 a 100 mSv. Sin embargo, hay quienes consideran que sobreestima el riesgo de dosis menores a 100 mSv y podría influir negativamente para exámenes radiológicos, con graves consecuencias para salud de la población. Del mismo modo, no sería correcto utilizarlo por debajo de los 10 mSv. Pero por otra parte, es aceptable sobreestimar los riesgos cuando se trata de trabajadores, para los que se prescribe una dosis límite de 100 mSv/5 años o sea un promedio de 20 mv/año, con la condición de no superar nunca los 50 mSv en un año.

Figura 6.10. Representación gráfica del Modelo LNT, con Umbral y de la Hormesis.



En términos radiobiológicos, se menciona que entre 5 y 10 mGy se lesionan pocas células, que si bien se eliminan por apoptosis, pueden llevar a la repoblación celular. A mayores dosis, este número aumenta e intervienen los sistemas de reparación para no poner en peligro al tejido (a pesar que con el tiempo pueda surgir un tumor). Cuanto mayor es la dosis y/o tasa, menor es la eficacia de estos sistemas. El riesgo de carcinogénesis *podría* ser bajo o nulo para exposiciones de 10 a 20 mGy, pero hay quienes sitúan el umbral alrededor de 50 mSv.

También el accidente de Chernobyl, expuso a millones de personas a dosis muy diversas de radiación. Mientras los bomberos que acudieron de inmediato recibieron desde 1 a 16 Gy (varios murieron luego de una década por cáncer radioinducido), para los individuos afectados a la descontaminación, la exposición fue diversa y no pudo verificarse un aumento de

leucemia. Si bien 5 millones de personas vivieron en áreas contaminadas, aún no hay datos fehacientes sobre la incidencia real en morbi/mortalidad de estas poblaciones. No se detectó aumento de cáncer, salvo tumores de tiroides infantiles. Sí se observaron cuadros compatibles con la angustia social, por el desorden económico y sanitario: depresiones, suicidios (por miedo a la radiación), astenia, infecciones y abortos. La preocupación superó a la realidad y se tomaron decisiones desmedidas por desconocimiento. En tal sentido, debieran considerarse las recomendaciones de la ICRP.

Otra fuente de información la constituyen estudios de pacientes sometidos a prácticas diagnósticas o terapéuticas, que implican el uso de RI. En cuanto a la exposición a dosis bajas, se ha observado un aumento de cáncer de mama, en pacientes que frecuentemente realizaron radioscopías por neumotórax o radiografías de columna por escoliosis. Se propone una relación lineal superando un umbral de 500 mGy, y un efecto de dosis acumulada considerando el valor de estas prácticas (decenas de mGy). Se observó que el riesgo disminuye con la edad, demostrando la alta radiosensibilidad del tejido mamario en mujeres jóvenes. Los datos epidemiológicos sugieren que el riesgo es muy bajo para la inmensa mayoría de los exámenes. Sin embargo, los principios de justificación y optimización son en el estado actual de nuestros conocimientos y deben ser respetados. Así la mamografía está justificada como control preventivo y debe concientizarse a las mujeres que rehúsan hacerla por temor. En cuanto a pacientes oncológicos sometidos a tratamientos de radioterapia (RT), en principio hay que considerar la influencia de la predisposición genética o de algún factor particular (tabaco), que hayan sido determinantes en su patología. Es difícil descifrar el rol etiológico de las radiaciones. No obstante, gracias al mejor control de la enfermedad y aumento de sobrevivencia, se ha logrado poner en evidencia cánceres secundarios. Por ejemplo, el tratamiento radiante para cáncer de próstata, deviene en un aumento (6%) de la frecuencia de tumores sólidos (vejiga, recto pulmón, sarcoma), luego de 15 a 25 años. Como vemos, no sólo hay que considerar el volumen blanco, cuyas dosis están en el orden de algunas decenas de Gy, sino también las decenas de mGy que reciben los órganos adyacentes. De manera análoga, la radioterapia para cáncer mama, aumenta el riesgo de desarrollar leucemia mieloide, cáncer de esófago y cáncer de pulmón.

Figura 6.11. *La dualidad de las radiaciones en términos de la carcinogénesis radioinducida.*



En este yin-yan de las exposiciones terapéuticas, los tejidos más sensibles a la radiocarcinogénesis son tiroides, mama y hematopoyético. Es importante considerar la edad del paciente al momento del tratamiento, en tanto hay mayor riesgo cuando es más joven. Por ejemplo, la radiocarcinogénesis de mama disminuye a medida que aumenta la edad al momento de la irradiación, pero aún es significativa hasta 30 años. Luego de los 50 años el riesgo es despreciable. Por otra parte, la RT en mama es más riesgosa para mujeres menores de 40 años, y en tiroides para individuos menores de 20 años. Este riesgo disminuye después de la pubertad y se mantiene hasta los 40 años. De esta manera, se aconseja limitar estas prácticas para personas menores de 30 años, sobre todo si las mamas están en campo de irradiación, o elegir la técnica que permita exponer el mínimo volumen de tejido sano. Obviamente un factor crucial es la dosis. Cuando su acumulación supera los 3 Gy, el riesgo aumenta. En cuanto a la dosis/fracción, se estima que la carcinogénesis es despreciable para valores inferiores a 120 mGy, aun cuando la dosis total alcance varios Gy. Contrariamente a lo que se creía, el riesgo no disminuye a dosis altas por efecto letal sobre las células. Aumenta con la dosis, aún con dosis elevadas. Por otro lado el riesgo disminuye con la disminución de la tasa de dosis y el fraccionamiento, no obstante depende del tejido e individuo. También es importante el sinergismo entre factores de riesgo: mujeres con RT por cáncer de mama que fuman, tienen mayor riesgo para cáncer de pulmón. Finalmente, para irradiación parcial hay que considerar la dosis efectiva y factor de ponderación según el tejido irradiado. El riesgo es máximo para la médula ósea, las mamas, el colon, el pulmón y el estómago y diez veces menor para huesos, cerebro, riñón, glándulas salivales y la piel. Este parámetro debe ser considerado particularmente en RT, dado que cuanto mejores son los resultados terapéuticos, mayor es el riesgo de cáncer secundario. Según la edad y tratamiento del 2 al 10 % de los pacientes presentará un cáncer secundario dos o tres décadas posteriores al tratamiento.

En lo que concierne a exposiciones profesionales, los casos de leucemias y cánceres de piel reportados en radiólogos, fueron atribuidos a escenarios primitivos con dosis mayores y sin medidas de protección radiológica. Actualmente, si se respetan las normas el riesgo oncológico no aumenta. Respecto a los mineros, el ambiente que afrontan puede habilitar la sinergia entre diferentes factores, tales como tabaco, polvo, arsénico, silicio y humos diesel, además de elementos como el uranio o radón.

En síntesis y bajo los términos de este capítulo, considerar el riesgo de un efecto carcinogénico es fundamental en la práctica médica y varía en función de la dosis y su tasa y del tipo de tejido. La ICRP distingue los efectos determinísticos, donde existe un umbral más allá del cual la gravedad de los efectos crece con la dosis, y los efectos estocásticos, particularmente la inducción de cáncer, para los cuales actualmente se considera que no hay un umbral y aumentan con la dosis sin modificar su gravedad.

Efectos Hereditarios inducidos por la radiación

Figura 6.12. *Las tres edades de la mujer*. Gustav Klimt.



Nota. <https://historia-arte.com/obras/las-tres-edades-de-la-mujer>

Entendiendo por efectos hereditarios a aquellos que señalan una condición patológica transmisible a través de las generaciones, en este caso aludiremos a los daños genéticos inducidos por la radiación, que se pueden transmitir desde los padres hacia los hijos. Será necesario entonces, referir a la exposición de las gónadas y su repercusión sobre óvulos y espermatozoides, gametos mediante los cuales se transfieren los cromosomas, transmitiendo las características biológicas codificadas en el ADN hacia la descendencia.

La producción de espermatozoides comienza en la pubertad, en los tubos seminíferos de los testículos y dura toda la vida. Es un proceso de algunas semanas, con etapas de diferente radio-sensibilidad, y por eso los efectos de la radiación no son ni inmediatos ni uniformes. Se inicia en las espermatogonias, células germinales primordiales del sexo masculino, donde

se concatenan los mecanismos mitóticos y meióticos adecuados. En general, las postespermatogonias son más radioresistentes que las células madre, y las células maduras postmeiosis (espermatozoide), son más sensibles que las premeióticas. Esto puede ser por la selección en contra de células dañadas durante la gametogénesis, pero también por la radiosensibilidad intrínseca de los diferentes estadios. Luego de una exposición a radiación, el individuo seguirá fértil hasta que disponga de células espermáticas maduras. Cuando se agoten, presentará esterilidad temporal, hasta que puedan repoblar las espermatogonias por división celular. En términos de dosis, se estima que la exposición de los testículos a 0,15 Gy es suficiente para disminuir luego de 45 días la cantidad de espermatozoides. Dosis mayores a 0,5 Gy producen azoospermia y esterilidad temporal (dosis dependiente): mientras que exposiciones menores a 1Gy revierten el estado en un año, para 2 y 3,5 Gy es necesario el doble de tiempo. Si bien para la inducción de esterilidad permanente sería necesaria una dosis de 6 Gy, estudios en pacientes sometidos a radioterapia, indican que dosis de 2,5 a 3 Gy fraccionadas alcanzarían. Así, de manera inversa a lo que sucede con otros órganos, la irradiación fraccionada en las gónadas podría ser más severa. No obstante, esta esterilidad radioinducida no es acompañada por cambios hormonales, de la libido o de capacidad física.

Por otra parte, las mujeres presentan una cinética gonadal diferente. Las células germinales no son proliferativas. Todas las células en el estado de oogonios, progresan a oocitos en el embrión, y no hay células en división. Consecuentemente, en el adulto no hay *stem cells* pero si, tres tipos de folículos: inmaduros, casi maduros y maduros. Al nacer, una mujer tiene 1.000.000 de oocitos, los cuales se reducen a 300000 en la pubertad. Si bien la radiación es efectiva en inducir falla ovárica, depende de la edad. La dosis necesaria para instaurar esterilidad permanente, varía desde 12 Gy en la pubertad, hasta 2 Gy en el periodo previo a la menopausia.

Para abordar mejor la comprensión de los efectos hereditarios, recordaremos que en la fecundación, cada uno de los gametos aporta 23 de los 46 cromosomas apareados presentes en nuestras células. Los miembros de cada par contienen los mismos genes, codificando para la misma característica (cromosomas homólogos), excepto el par de cromosomas sexuales, que difieren en su información y determinan el sexo. El cromosoma Y se transmite vía paterna a hijos varones (XY) y el X se hereda de las madres para ambos sexos y de los padres en las mujeres (XX). Con respecto a la organización de la información genética en relación a las características del individuo, si bien hay rasgos codificados por un sólo gen (mendelianos), otros son determinados por varios genes (poligénicos) y están sometidos a una fuerte influencia ambiental (también se conocen como multifactoriales). Asimismo, también hay características codificadas por el ADN mitocondrial (extranucleares). Por otra parte, sabemos que de la secuencia de un gen sólo se transcriben y traducen los exones, mientras que secuencias externas regulan su expresión. De esta manera, la función génica no sólo puede ser alterada por pérdida o modificación de secuencias codificantes, sino también por alteraciones en sitios que regulan la expresión.

Considerando lo mencionado, tanto de manera espontánea como inducida por diferentes agentes, pueden originarse cambios en esta organización genómica, que impliquen un costo fenotípico: mutaciones en genes únicos, originando patologías mendelianas, desórdenes multifactoriales, constituyendo trastornos que involucran factores genéticos varios o finalmente aberraciones cromosómicas. En el primer caso, modificaciones, inserciones o pérdidas de las bases nitrogenadas, puede ser causa de cambios heredables, que según el modo de transmisión, pueden comportarse como dominantes, recesivos o ligados al sexo. Mientras que las mutaciones dominantes para poder expresarse sólo necesitan la presencia de un alelo (ej., acondroplasia, polidactilia), las recesivas requieren el aporte de ambos progenitores y pasan inadvertidas en los individuos heterocigotas (ej., fibrosis quística, fenilcetonuria). Finalmente, las mutaciones ligadas al sexo, necesitan estar en copia simple en el hombre o doble en mujeres para expresar la disfunción (ej., hemofilia, daltonismo).

Figura 6.13. Modelo de Herencia Mendeliana.

Aa x Aa		
GAMETAS	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

Por otra parte, las anomalías congénitas y muchos desórdenes crónicos como la diabetes, hipertensión o ciertas patologías cardíacas, son característicos de una herencia poligénica. En tanto, los rearrreglos cromosómicos suelen encontrarse en abortos espontáneos (40%) y en menos frecuencia nacidos muertos (6%). Asimismo, muchas lesiones del ADN que pueden derivar por ejemplo en translocaciones, cuando se heredan pueden provocar desbalances génicos y anomalías físicas o mentales.

En línea, si bien siempre se ha asociado a las radiaciones como agente causal de deformidades o monstruos, esto es falso. Este agente no introduce nuevas condiciones o efectos heredables. Sólo aumenta la frecuencia de los cambios ya instaurados en la población. Por esta razón, las mutaciones radioinducidas no pueden ser identificadas con respecto a las espontáneas y por ende su abordaje es dificultoso.

Figura 6.14. Jean-Michel Basquiat. Filisteos.



Nota. <https://historia-arte.com/obras/filisteos-de-basquiat>

La información de los efectos hereditarios de la radiación proviene casi íntegramente de experimentación animal. Los primeros estudios a nivel poblacional de los cambios genéticos radio-inducidos, fueron realizados en 1927 por Müller, en *Drosophila melanogaster*. La eficacia de este modelo asentía realizar experimentos con tamaños de muestras grandes, de fácil manejo y poco costo. A través de él, se demostró que la exposición a rayos X aumentaba la frecuencia de mutaciones, convenientemente detectables por cambios morfológicos o letales. En la era donde se impuso la Genética, estos resultados fueron elocuentes y evidenciaron no sólo que la radiación inducía mutaciones, sino también que se fueron acumulando y en términos evolutivos contribuyeron a la carga genética de la especie. Estas investigaciones valieron el premio Nobel y fueron utilizadas en los años 50 para establecer las recomendaciones de los límites permisibles de exposición a la radiación. Si bien los efectos hereditarios fueron considerados el mayor peligro de la radiación, con el tiempo y el avance del conocimiento, la atención se desplazó hacia los efectos carcinogénicos, que se fueron evidenciando en los sobrevivientes de Hiroshima y Nagasaki.

Por otra parte, luego de la Segunda Guerra Mundial, en un importante laboratorio de Estados Unidos, el matrimonio Russell lideró un megaproyecto con ratones, para determinar tasas de mutación bajo diferentes condiciones experimentales. Eligieron una cepa endogámica, que expresa 7 mutaciones locus específicas, mediante cambios en el color del pelaje o atrofas auriculares. Si bien estas mutaciones pueden ocurrir espontáneamente, su incidencia aumenta por irradiación. El diseño experimental se sustanció irradiando tanto machos como hembras, con determinadas dosis, tasas de dosis y fraccionamiento. Las conclusiones más elocuentes fueron:

1. Hay una diferencia de radiosensibilidad para diferentes mutaciones, pero es posible hablar de una tasa de mutación promedio.

2. El efecto de la tasa de dosis es sustancial. La distribución de la dosis en el tiempo induce menos mutaciones que las exposiciones agudas, contrariamente a lo observado en *Drosophila*, donde las dosis fraccionadas son acumulativas. Este evento fue imperativo, para considerar el proceso de reparación del ADN.
3. Se pueden reducir las consecuencias heredables de la radiación, si se deja transcurrir un tiempo entre la exposición y la concepción (posiblemente por la reparación).
4. Los datos de los efectos hereditarios de la radiación provienen sólo de la experimentación en los machos, en tanto los ovocitos mueren aún con dosis bajas.

Los antecedentes de Hiroshima y Nagasaki indican que no hay un efecto detectable luego de la exposición aguda a dosis moderadas de radiación, sobre la salud de los hijos y nietos de los individuos expuestos. Cualquier secuela pasa desapercibida en el fondo de las mutaciones espontáneas. Dado que no se dispone de evidencia directa para nuestra especie, la información obtenida en ratones fue muy valiosa para la estimación del riesgo genético y asesoramiento en humanos. Por ejemplo, para individuos expuestos accidentalmente a 0,1 Gy, o pacientes jóvenes que recibieron radioterapia o realizaron radiodiagnóstico por columna lumbar o tracto gastrointestinal (con exposición de gónadas dentro del campo de irradiación), se pudo sugerir que transcurran al menos 6 meses para la planificación de la concepción, por las posibles consecuencias genéticas.

Si bien no hay un umbral para la inducción de mutaciones, su generación dependerá de la calidad de la radiación (mayor efectividad a alto LET) y de la tasa de dosis (tiempo durante el cual las células germinales son irradiadas). La relación dosis-respuesta obedece a la linealidad, para trazas únicas, o arreglo cuadrático para interacciones entre dos trazas independientes. Un factor ineludible es la radiosensibilidad de la línea germinal. En términos cromosómicos, se menciona que la radiación principalmente induce rupturas más que errores en su distribución y por ende desajuste numérico. No obstante, estos cambios no suelen asociarse a bajos niveles de exposición. Tan sólo del 1 al 6 % de las mutaciones espontáneas en humanos, puede ser atribuida a la radiación de fondo.

La estimación del riesgo de efectos heredables por irradiación en humanos, requiere dos datos: 1) el nivel basal de la tasa de mutación espontánea para humanos (738,000/millón) y 2) la dosis duplicadora (DD), que procede de experimentación en ratón y calcula las mutaciones radioinducidas, con aquellas que se producen espontáneamente. Es decir, la cantidad de radiación necesaria para producir tantas mutaciones como las producidas naturalmente en una generación en una población. La estima de la DD, respaldada por el *Comité sobre los Efectos Biológicos de la Radiación Ionizante* (BEIR V) y la UNSCEAR es 1 Gy, para radiación de bajo LET y baja tasa de dosis. El cálculo fue realizado, ajustando la tasa de mutación por locus en ratón, al número comparable de loci en humanos. Asimismo, se pueden aplicar dos factores de corrección, propuestos por la ICRP. El primero, conocido como *Componente Mutacional* (CM) contempla el hecho que no todas las mutaciones derivan en una patología y considera y depende del modelo de herencia (mendeliano/multifactorial). El segundo factor de corrección,

considera el hecho que las mutaciones utilizadas para evaluar la DD en ratones, no son representativas de todas las enfermedades heredables en humanos. No se incluyeron genes esenciales para la vida o localizados en regiones esenciales del genoma. La mayoría de los genes que causan enfermedades humanas no son de este tipo. Sólo entre el 15 al 30% de los genes autosómicos y ligados al X, pueden presentar mutaciones recuperables en nacidos vivos. Para enfermedades multifactoriales que involucran varios genes, la fracción recuperable en nacidos vivos podría ser aún más baja.

La ICRP estima en un 0,2 %/Sv el riesgo de problemas hereditarios por radiación para la población en general y en un 0,1 %/Sv para trabajadores. El riesgo de enfermedades autosómicas dominantes y ligadas al X para la primera generación luego de la irradiación, es aproximadamente de 750 a 1500/1.000.000 de progenie por Gy (bajo LET), comparado con el nivel basal de 16.500 casos/millón. El riesgo de enfermedades autosómicas recesivas es 0, comparado con 7.500 casos/millón. El riesgo de enfermedades crónicas es de 250 a 1200 casos/millón, comparado con el basal de 650.000/millón. El riesgo de anomalías congénitas 2000 casos por millón.

Finalmente se menciona evidencia de estudios en animales, que refiere a que la exposición a factores ambientales prenatales y posnatales tempranos, incluida la radiación, puede alterar la programación epigenética, con en el riesgo de desarrollar enfermedades en la etapa adulta.

Efectos no centrados

Durante décadas el dogma prevaleciente de los efectos biológicos inducidos por la radiación ionizante, se sostuvo en el daño en el ADN infligido en la célula que fue irradiada (Teoría del Target), que derivaba en daño celular, mutaciones e inducción de procesos carcinogénicos. Sin embargo, desde fines del siglo pasado se sostiene un crecimiento marcado de estudios que reportan efectos fuera del campo de la radiación, sugiriendo un cambio del paradigma. Así, bajo el nombre de Efecto Bystander (Efectos Circundantes o Efectos de la Vecindad), se describe una situación donde células que no han sido expuestas directamente a la radiación, pero que estaban ubicadas cerca de células irradiadas, demuestran efectos similares a ellas. Aunque el mecanismo aún no ha sido totalmente esclarecido, involucra la participación de vías y estructuras de señalización intercelular. La significancia de este proceso deviene importantes connotaciones no sólo para la protección radiológica, sino también para la radiología diagnóstica y la radioterapia.

Considerar no sólo los efectos centrados de la radiación y dar cabida a la “penumbra biológica”, implica reconocer que los riesgos asumidos por la exposición a radiaciones ionizantes podrían subestimar las consecuencias. El efecto de una dosis de radiación, no depende sólo de la cantidad de energía depositada, sino de cómo responda la célula a ese depósito energético. Es decir, que clase de señales genera. La respuesta a la radiación es holística, trasciende el nivel celular; incluye la interacción entre las células y su microambiente, mediada por sistemas específicos de señalización. Entre éstos, la comunicación mediante uniones gaps juega un rol

importante y también diversos factores clastogénicos secretados y difusibles (por ejemplo citoquinas), responsables de la transmisión del daño desde las células irradiadas a las adyacentes no irradiadas.

A través de diversos ensayos se ha demostrado que el Efecto Bystander incluye la reducción de la capacidad clonogénica celular, el aumento en el intercambio de cromátidas hermanas, formación de micronúcleos, mutaciones puntuales y apoptosis. También se observó cambios en la expresión de genes relacionados con el estrés oxidativo y efectos tardíos propios de la inestabilidad genómica. Este último fenómeno, alude a la presencia de efectos deletéreos en la progenie de células irradiadas, varias generaciones después de producida la exposición. Se sugiere que la señalización intercelular inducida por la irradiación, persiste temporalmente mediante la generación cíclica de sus componentes (especies reactivas de oxígeno y citoquinas inflamatorias), proyectando la respuesta a través del tiempo.

Bajo el marco de los cánceres radioinducidos, la existencia de estos efectos pone de manifiesto que no hay una correlación directa entre el número de células expuestas a la radiación y el número de células en riesgo de desarrollar mutaciones, aberraciones cromosómicas o apoptosis. Por esta razón, la simple relación dosis-efecto y teoría del blanco pueden ser objetados, al igual que el modelo vigente de proyección del riesgo carcinogénico por radiación (LNT). Por otra parte, en el área terapéutica, los efectos biológicos de la radiación podrían cubrir una zona más amplia que la del haz radiante y el efecto de la penumbra podría necesitar reconsiderarse.

Referencias

- Figura 6.1. Sailko. 2007. Aspetti di vita quotidiana, vomito, Taccuino Sanitatis, Ca. Maestro desconocido. https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:49-aspetti_di_vita_quotidiana_vomito,Taccuino_Sanitatis,_Ca.jpg.
- Figura 6.6. Calvo Santos M. (2019). Las manos del doctor Moore. Diego Rivera. <https://historia-arte.com/obras/las-manos-del-doctor-moore>.
- Figura 6.9. Fg2. (2005). Paper cranes, folded as prayers for peace. Peace Park, Hiroshima, Japan. <https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:HiroshimaPaperCranes6682.jpg>.
- Figura 6.12. Brocchi L. (2020). Las tres edades de la mujer. <https://historia-arte.com/obras/las-tres-edades-de-la-mujer>. Klimt G. <https://historia-arte.com/obras/las-tres-edades-de-la-mujer>
- 6.14. Lampkin F. (2016). Filisteos. <https://historia-arte.com/obras/filisteos-de-basquiat>
- Ali YF, Cucinotta FA, Ning-Ang L, Zhou G. (2020). Cancer Risk of Low Dose Ionizing Radiation. *Frontiers in Physics*. 8: 234.
- Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN), Cámara de Instituciones de Diagnóstico Médico (CADIME) y Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA). (2001). Efectos biológicos de las radiaciones. ARN, CADIME, CNEA. Radioprotección en las aplicaciones médicas de la radiación ionizante. pp 45 – 62. Cámara de Instituciones de Diagnóstico Médico.

- Averbeck D. (2008). Efecto de las Radiaciones sobre el ADN. Tubiana M. Radiobiología. Tercera Edición (pp 145 - 150). Editorial Hermann/Medicina. París.
- Azzam EI, Little JB. (2004). The radiation induced bystander effect: evidence and significance. *Hum Exp Toxicol.* 23: 61-5.
- Azzam EI, de Toledo SM, Gooding T, Little JB. (1998). Intercellular communication is involved in the bystander regulation of gene expression in human cells exposed to very low fluences of alpha particles. *Radiat Res.* 150: 497-504.
- Cox TM y Sinclair J. (1998). Biología molecular del cáncer. Cox TM y Sinclair J. Biología Molecular en Medicina. (pp 158 – 180). Editorial Médica Panamericana 158 – 180.
- Cox TM y Sinclair J. (1998). Principios de Genética Médica. Cox TM y Sinclair J. Biología Molecular en Medicina. (pp 88-92). Editorial Médica Panamericana
- Gisone P y Pérez MR. Efectos biológicos de la radiación. Documento de la Autoridad Regulatoria Nuclear. Disponible en: https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/33/052/33052454.pdf
- Güerci AM, Ponzinibbio MV, Dodat D, Martínez M, Sánchez G, Casas O. (2008). Evaluación citomolecular del efecto vecindad en fibroblastos de pulmón humano bajo condiciones de exposición radioterapéutica. *Revista de Física Médica.* 9(1): 5-18.
- Guyton A y Hall JE. (2011). Fisiología femenina antes del embarazo y hormonas femeninas. Guyton A y Hall JE. Tratado de fisiología médica. Duodécima edición. (pp 988-991). Elsevier. España.
- Guyton A y Hall JE. (2011). Funciones reproductivas y hormonales masculinas. Guyton A y Hall JE. Tratado de fisiología médica. Duodécima edición. (pp 973). Elsevier. España.
- Guyton A y Hall JE. (2011). Maduración y fecundación del óvulo. Guyton A y Hall JE. Tratado de fisiología médica. Duodécima edición. (pp 1003). Elsevier. España.
- Hall, EJ and Giaccia A. (2012). Acute Radiation Syndrome. Hall, EJ and Giaccia A. Radiobiology for the Radiologist. Seventh Edition. pp 114 - 128. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.
- Hall, EJ and Giaccia A. (2012). Heritable Effects of Radiation. Hall, EJ and Giaccia A. Radiobiology for the Radiologist. Seventh Edition. pp 159 - 172. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.
- Hall, EJ and Giaccia A. (2012). Radiation Carcinogenesis. Hall, EJ and Giaccia A. Radiobiology for the Radiologist. Seventh Edition. pp 135 - 156. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.
- Hanahan D, Weinberg RA. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 144(5):646-74.
- Little JB. (2006). Cellular radiation effects and the bystander response. *Mutat Res.* 597:113-8.
- Little JB. (2003). Genomic instability and bystander effects: a historical perspective. *Oncogene.* 22: 6978-87.
- Molinari A, Portas M, Rossini A, Michelin S, Dubner D. (2015). Indicadores de la respuesta inflamatoria en síndrome cutáneo radionducido (SCR) por prácticas de radiología intervencionista. X Congreso Regional Latinoamericano IRPA de Protección y Seguridad Radiológica. "Radioprotección: Nuevos Desafíos para un Mundo en Evolución"- Buenos Aires. Sociedad Argentina de Radioprotección.
- Mothersill C, Seymour CB. (2006). Radiation-induced bystander effects and the DNA paradigm: an "out of field" perspective. *Mutat Res.* 597: 5-10.

- Mothersill C, Seymour CB. (2004). Radiation- induced bystander effects implications for cancer. Nat Rev Cancer. 4: 158-64. Preston RJ. (2005). Bystander effects, genomic instability, adaptive response, and cancer risk assessment for radiation and chemical exposures. Toxicol Appl Pharmacol. 207: 550-6.
- Ruiz A. (1996). Los principios de Mendel. Tamarín RH. Principios de Genética. pp: 15 - 37. Barcelona. Editorial Reverté.
- Snyder AR. (2004). Review of radiation-induced bystander effects. Hum Exp Toxicol. 23: 87-9.
- Tubiana M y Masse R. (2008). Efectos deletéreos de las radiaciones sobre el organismo. Tubiana M. Radiobiología. Tercera Edición (pp 380 - 428). Editorial Hermann/Medicina. París.

CAPÍTULO 7

Efectos biológicos asociados con la irradiación prenatal

Diana Dubner

Figura 7.1. *La Escalera.* Raúl Soldi.



Nota. Colección pintores argentinos del Siglo XX. Fascículo 31. Centro editor de América Latina.

Introducción

Históricamente se pensó que todas las formas de radiación, incluyendo diagnóstica y terapéutica deberían ser evitadas durante la gestación. La exposición del embrión-feto no sólo es causa de preocupación y ansiedad, sino que también lleva a retrasos en diagnósticos y tratamientos, con potenciales efectos adversos en la salud materna y fetal.

Las posibilidades de exposición incluyen:

- i) Exposiciones planificadas: pacientes que requieren exploraciones radiológicas o de medicina nuclear, o incluso radioterapia durante la gestación.
- ii) Exposiciones accidentales en el embarazo.
- iii) Exposiciones ocupacionales durante el embarazo.

Efectos por irradiación durante la vida intrauterina

De acuerdo a la *Ley de Bergonie-Tribondeau*, la radiosensibilidad de un tejido es directamente proporcional al número de células no diferenciadas, a su actividad mitótica y a su porvenir cariocinético. Los sistemas prenatales son durante buena parte del desarrollo, sistemas muy indiferenciados, con un índice mitótico alto y una alta capacidad de proliferación. Una primera conclusión sería que constituye un sistema cuya capacidad intrínseca de respuesta frente a la radiación es diferente.

Proliferación celular, diferenciación y migración son procesos determinantes durante el desarrollo prenatal desde el óvulo fertilizado hasta el feto al momento del nacimiento. La radiación ionizante interfiere con los tres eventos, pero la radiosensibilidad varía durante los estadios del desarrollo en relación a varios efectos biológicos.

Los potenciales efectos radioinducidos incluyen muerte prenatal, reducción del crecimiento intrauterino, microcefalia, retardo mental severo, disminución del coeficiente de inteligencia, malformación en órganos y cáncer en la niñez. Estos efectos van a depender de la dosis absorbida, la tasa de dosis y el estadio del desarrollo en el cual ocurre la exposición.

En general, para un determinado período de gestación, las exposiciones prolongadas, tienen probablemente un efecto total menor, que el originado por una exposición breve a la radiación pero de intensidad elevada.

El desarrollo del embrión/feto se expresa en términos de la edad postconcepcional (PC) que puede ser dividida en tres grandes fases.

- a) período de preimplantación, desde la concepción hasta la implantación (aproximadamente 10 días).
- b) la fase de organogénesis principal, que se extiende desde la 3ª hasta, aproximadamente, la 8ª semana PC.

- c) la fase de desarrollo fetal que abarca desde la 8ª semana PC hasta el nacimiento (y que incluye el importante período de desarrollo del sistema nervioso central, que ocurre entre las semanas 8ª y 25ª).

A continuación se referirá a cada uno de estas fases.

Período de preimplantación

Para el análisis del riesgo por irradiación durante este período no se dispone de observaciones en humanos, ya que no se advierte la concepción en ese momento. Por lo tanto, el análisis de riesgos solo puede realizarse sobre la base de experimentos con animales, que se han llevado a cabo principalmente con ratones y ratas.

El período de pre-implantación está determinado por procesos de proliferación celular desde el cigoto (una célula) hasta el blastocisto (100 células en ratones, 250 células en humanos). Luego, el blastocisto se implanta en el útero para un mayor desarrollo.

Para este estadio del desarrollo se describe un efecto de *todo o nada*: la irradiación puede causar la muerte embrionaria, o no hay efectos observables en el desarrollo y sobrevive.

La radiación puede interferir con la proliferación celular y esto conduce a un retraso del desarrollo; las células morirán, a lo cual puede seguir la muerte de todo el embrión. La muerte se debe principalmente al daño citogenético. Las aberraciones cromosómicas se desarrollan durante los breves ciclos celulares de estas células que se dividen rápidamente y se correlacionan con la muerte de los embriones.

En general, se acepta que las características de células pluripotenciales de los blastómeros o el bajo grado de diferenciación de las últimas etapas, podrían compensar la pérdida de células hasta cierto punto. Además, los procesos de reparación del ADN son muy eficientes durante estos primeros estadios del desarrollo. Por lo tanto, no se espera que se induzcan malformaciones durante esta etapa de desarrollo. Modelos animales reportan que una dosis de radiación de baja LET de **0.1 Gy** puede causar muerte en estadios sensibles de preimplantación.

Período de organogénesis principal

Cada tejido/órgano pasa por un período de máxima radiosensibilidad correspondiente a su fase de diferenciación y organización. Los períodos de mayor sensibilidad a las malformaciones son: (i) durante la formación del eje temprano del cuerpo y del tubo neural (principalmente defectos de inducción asociados con alta letalidad); y (ii) durante el período subsiguiente de organogénesis principal, cuando prevalecen los defectos específicos de órganos. Estos últimos alcanzan un máximo después de la exposición en los días 10 a 11 después de la concepción en ratones y 1 a 2 días después en ratas, lo que corresponde a los días 29 a 32 después de la concepción en humanos.

En modelos animales se han descrito un amplio rango de malformaciones características como espina bífida, exencefalia, anomalías esqueléticas de las extremidades, anomalías oculares, genitales y retardo del crecimiento. En oposición a la letalidad y las malformaciones, la mayor sensibilidad a la pérdida de peso fetal se alcanza durante la organogénesis avanzada.

Más allá de los modelos experimentales, los datos epidemiológicos humanos de malformaciones supuestamente radioinducidas son tan escasos que no permiten establecer relaciones causales inequívocas. En Hiroshima y Nagasaki las anomalías esqueléticas del grupo expuesto intraútero a dosis importantes, no difieren de los expuestos a más de 4 Km del hipocentro de la explosión, cuya población recibió dosis cercanas a 0. Se describe microcefalia y retraso en el crecimiento, con una probabilidad de ocurrencia que se incrementa con la dosis. La incidencia de microcefalia para todas las dosis fue: 28 % entre las semanas 4 a 13 y 7 % para el período de gestación restante.

Por otra parte, la observación de microcefalia dentro de días de la exposición "*in útero*" en ratón, se piensa que es mayormente atribuible a una apoptosis masiva radioinducida. Sobre la base de datos experimentales se estima que existe un umbral de dosis de alrededor de **0.1Gy** para la inducción de malformaciones.

Período Fetal

Se extiende entre la 8ª semana PC hasta el nacimiento. La diferenciación de los sistemas tisulares, son procesos extremadamente complejos. Dentro de éste período, el Sistema Nervioso Central (SNC) en desarrollo, se constituye en el sistema más vulnerable y resulta un blanco particularmente sensible, en virtud de ciertas características intrínsecas:

- El desarrollo del SNC es un proceso muy largo que se completa durante la vida postnatal.
- Este desarrollo implica una secuencia ordenada de eventos que consisten en fenómenos de multiplicación, migración, apoptosis y diferenciación celular.
- Las funciones del SNC dependen de la correcta distribución espacial de las células especializadas que la componen y de la interrelación de sus estructuras.
- El tejido nervioso no es autorreparable.

Además del daño del ADN, la detención del ciclo celular y la apoptosis en los neuroblastos, otro resultado de la irradiación prenatal es la alteración de la migración neuronal. La interrupción observada de la migración neuronal después de la irradiación provoca la introducción de células ectópicas diseminadas por todo el cerebro. Tal desorganización de las neuronas puede ir acompañada de una orientación, morfología y arborización neuronal defectuosa, como resultado de una maduración inadecuada y alterada. Evidentemente, una organización dendrítica tan alterada también podría implicar una formación de circuito neuronal y comunicación sináptica inadecuadas.

El conocimiento de los efectos de la radiación en el hombre durante este período se basa en gran medida en los datos recopilados de sobrevivientes de Hiroshima y Nagasaki que se encontraban embarazadas al momento de las explosiones. Más de 1500 niños fueron investigados para estudiar los efectos de dosis entre 0.01 - >1 Gy, en diferentes estadios de la gestación. Hubo 18 niños que presentaron microcefalia y retraso mental severo (RMS). Las madres de 15 niños habían estado expuestas cuando estaban en la semana 8 a la 15 de embarazo, mientras que 3 estuvieron expuestas en etapas posteriores del embarazo.

Los momentos críticos para la generación de RMS en el ser humano se encuentran comprendidos entre las 8 y 15 y las 16 y 25 semanas PC, con un riesgo asociado de **40 % / Gy** y **10 % / Gy** respectivamente.

Las imágenes por resonancia magnética (IRM) de cerebros de supervivientes de bombas atómicas con retraso mental revelaron regiones de materia gris anormalmente situada, que se proponen como resultado de una migración defectuosa consecuencia de la irradiación. La revisión de los datos sobre la inducción de retraso mental severo en el período prenatal más sensible (8 a 15 semanas PC) respalda un umbral de dosis de al menos **0.3 Gy** para este efecto y, por lo tanto, la ausencia de riesgo a dosis bajas.

No hay evidencia de un efecto de la radiación en las tasas de retraso mental, cuando la exposición prenatal se produjo desde la semana 26 en adelante, desde la concepción; solo existen informes para las semanas 3 a 7, de casos que sugieren la posibilidad de consecuencias radioinducidas. El segundo hallazgo, se refiere a una reducción del coeficiente de inteligencia (CI) con el incremento de la dosis. En el período comprendido entre las semanas 8^a y 15^a después de la concepción, la reducción del CI a una dosis fetal de 1 Gy es de unos 30 puntos. Un desplazamiento similar, aunque menor, es detectable para exposiciones producidas en el período comprendido entre las semanas 16^a y 25^a. Independientemente del tiempo de gestación, la reducción del CI no puede identificarse clínicamente para dosis fetales menores que **0.1Gy**.

Otras manifestaciones relacionadas con la irradiación del SNC durante la vida prenatal se asocian con convulsiones durante la infancia, alteraciones de la escolaridad y una mayor incidencia en el retraso del crecimiento.

Más allá de la semana 25, el feto está completamente desarrollado y se ha vuelto más resistente a los efectos de la radiación sobre el desarrollo. La irradiación en este período no resulta en malformaciones, pero puede resultar en depleción celular de varios órganos y tejidos, particularmente del sistema hematopoyético. La misma dosis (500 mGy) dada en período temprano de gestación no tiene efecto, mientras que dada en un período medio o tardío, resulta en depleción significativa de precursores de la médula ósea un año después.

Carcinogénesis asociada a irradiaciones prenatales

Como resultado de la exposición a las radiaciones desde la concepción hasta el parto, se cree que existen riesgos incrementados de cáncer infantil y de leucemia. La incidencia espontánea de cáncer infantil y leucemia en el período de edades entre 0 y 15 años, sin exposición adicional a la radiación natural de fondo, es aproximadamente del 2 - 3 por 1.000. La magnitud del riesgo debido a una exposición a dosis bajas de radiación y la posibilidad que el riesgo varíe a lo largo del embarazo han sido temas de muchas publicaciones, pese a lo cual la interpretación de los datos continúa abierta al debate.

En estudios sobre seres humanos, el riesgo asociado a la exposición a dosis bajas, es difícil de detectar. Un estudio epidemiológico (caso - control), del Oxford Survey of Childhood Cancers

(OSCC), ha mostrado riesgos incrementados de cáncer infantil y leucemia, asociados a exámenes obstétricos con rayos X en mujeres embarazadas. Pero en este estudio han sido observadas algunas debilidades metodológicas.

Los análisis de los datos de sobrevivientes de Hiroshima y Nagasaki sugieren que la magnitud del riesgo de cáncer en la edad adulta debido a la exposición en el útero, puede ser similar a la de la exposición a la radiación en la primera infancia. El seguimiento de las cohortes intrauterinas y de la primera infancia, no ha sido sin embargo, lo suficientemente largo como para caracterizar el riesgo de por vida.

El riesgo de cáncer por exposición durante el primer trimestre parece ser tan grande como la de la exposición durante el tercer trimestre, aunque existe una gran incertidumbre porque los números de irradiados durante el primer trimestre fueron pequeños y las dosis no eran muy conocidas. No hay información disponible sobre el riesgo de cáncer en humanos por irradiación durante el período de preimplantación.

Un análisis reciente de muchos de los estudios epidemiológicos realizados sobre exposiciones prenatales a los rayos X y cáncer infantil, es consistente con un riesgo relativo de 1.4 (es decir, un incremento del 40% sobre el riesgo natural) para una dosis fetal de alrededor de 10 mGy. Sin embargo, los mejores estudios metodológicos sugieren que el riesgo probablemente sea menor. Aún si el riesgo relativo fuera tan alto como 1.4, la probabilidad individual de cáncer infantil debida a una irradiación en útero sería muy baja (alrededor del 0,3 a 0,4 %) ya que la incidencia natural de cáncer infantil es baja.

Resumen de efectos y riesgo por irradiación prenatal

Las tablas 7.1 y 7.2 resumen los efectos principales y riesgos por irradiación prenatal.

Tabla 1. 7. Efectos de la radiación sobre el Embrión/Feto en función de la edad gestacional.

Efecto	Preimplantación (0 - 10 días)	Organogénesis (2 - 7 sem.)	Fetal (8 - 15 sem)	Fetal (16 – 25 sem)	Fetal (≥ 26 sem)
Muerte	+++	+	-	-	-
Microcefalia	-	+++	+	+	-
Retraso mental	-	-	+++	++	-
Retraso crecimiento	-	+	+	+	+
Carcinogénesis	-	+	+	+	+

Tabla 7.2. Resumen del riesgo en función de la dosis.

Dosis (Gy)	Riesgo
< 0.05	Bajo
0.05 - 0.10	Incierto
0.10 - 0.50	Significativo (1° - 2°) trimestre
≥ 0.5	Alto (Todos los trimestres)

Implicancias en protección radiológica

El conocimiento de los efectos prenatales permite la protección adecuada del binomio materno-fetal y la toma de decisiones médicas. El mismo es relevante tanto en el caso de las exposiciones ocupacionales o de exposiciones médicas planificadas, como en el caso de irradiación accidental o de embarazo no declarado.

Exposición ocupacional

Las bases para el control de la exposición ocupacional de las mujeres que no están embarazadas son las mismas que para los hombres. Sin embargo, si una mujer está embarazada, deben tenerse en cuenta controles adicionales para proteger al niño aún no nacido. Por lo tanto, existe un límite de dosis fetal recomendado. Los límites de dosis para el feto son comparables con los establecidos para los miembros del público.

Una vez que se haya declarado el embarazo y se haya notificado al empleador (titular de la instalación), debería considerarse la protección adicional del feto. Las condiciones de trabajo de una trabajadora embarazada, a partir de la declaración de su embarazo, deberían ser tales que hiciesen improbable que la dosis adicional a ser recibida por el embrión o feto vaya a exceder **1 mGy** durante el resto del embarazo.

Exposición por prácticas médicas

Una práctica médica en una mujer gestante está debidamente justificada, si el riesgo que implica para la madre el hecho de no efectuarla supera el riesgo potencial de daño al embrión/feto asociado a la práctica.

Una vez justificado el procedimiento, se deberá optimizar la práctica para crear las condiciones que permitan administrar la menor dosis en útero, garantizando el propósito diagnóstico/terapéutico. La manera en la cual el examen será realizado dependerá si el embrión/feto estará en el haz directo y si el procedimiento requiere una dosis alta. Las dosis prenatales de la mayoría

de los procedimientos diagnósticos realizados correctamente no presentan un riesgo significativo. Dosis fetales de 0.1 Gy no son alcanzadas aun con 3 escaneos pélvicos de tomografía computada o más de 20 diagnósticos convencionales de exámenes con Rayos X. Estos niveles pueden ser alcanzados con procedimientos de intervencionismo guiados por fluoroscopia en pelvis, o con radioterapia.

Interrupción del embarazo

Las dosis fetales menores que 0.1 Gy no deberían considerarse una razón para interrumpir un embarazo. En caso de dosis fetales superiores a dicho nivel, podría haber daño fetal, cuya magnitud y tipo son funciones de la dosis y de la etapa del embarazo. A mayores dosis fetales, las decisiones deberían tomarse luego de una apropiada información y basándose en las circunstancias individuales.

Referencias

- Figura 7.1. Soldi R. (1980). La Escalera. Colección pintores argentinos del Siglo XX. Fascículo 31. Centro editor de América Latina.
- Brent R. (2015). Protection of the gametes embryo/fetus from prenatal radiation exposure. *Health Phys.* 108(2):242-74.
- ICRP. (2000). Pregnancy and Medical Radiation. ICRP Publication 84. *Ann. ICRP* 30 (1).
- ICRP. (2003). Biological Effects after Prenatal Irradiation (Embryo and Fetus). ICRP Publication 90. *Ann. ICRP* 33 (1-2).
- ICRP. (2007). The 2007 Recommendations of the International Commission of Radiological Protection. ICRP Publication 103. *Annals ICRP* 37 (2-4).
- International Atomic Energy Agency. (2010). Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students, Training Course Series No. 42, IAEA, Vienna.
- Streffer C, Müller WU. (1996). Malformations after radiation exposure of preimplantation stages. *Int J Dev Bio.* 40(1):355-60
- Verreet T, Verslegers M, Quintens R, Baatout S, Benotmane MA. (2016). Current Evidence for Developmental, Structural, and Functional Brain Defects following Prenatal Radiation Exposure. *Neural Plasticity.* Article ID 1243527.
- Williams PM, Fletcher S. (2010). Health effects of prenatal radiation exposure. *Am Fam Physician.* 82:488-93.

CAPÍTULO 8

Ensayos predictivos de radiosensibilidad

Eliana Ocolotobiche

Figura 8.1. Sueño y presentimiento. María Izquierdo.



Nota. <https://historia-arte.com/obras/sueno-y-presentimiento>

Introducción

La respuesta individual a la radiación ionizante (RI) ha sido identificada como un problema peculiar debido a la probabilidad de que las personas afectadas por una reacción anormal merezcan más atención y protección radiológica que los respondedores normales. Esta reacción comprende a la toxicidad tisular, referida como radiosensibilidad, y el cáncer radioinducido referido como radiosusceptibilidad. Mientras que la **radiosensibilidad** se relaciona a eventos tisulares adversos atribuibles a la muerte celular, después de altas dosis de radiación ionizante, la

radiosusceptibilidad alude a la carcinogénesis radioinducida o cualquier evento estocástico relacionado, como la transformación celular.

La principal fuente antropogénica de exposición a radiación para la población en general son las exposiciones médicas, tanto en términos de la cantidad de personas expuestas así como en relación a la dosis administrada. Las tres situaciones principales son: **radioterapia**, **radiodiagnóstico** y **radiología intervencionista**:

En oncología, más del 60 % de los pacientes se benefician de la **radioterapia**. Se observan excelentes tasas de éxito para tratamientos radicales con intención curativa, aunque varían considerablemente a largo plazo según el tipo de cáncer, incluso si el control local se logra a corto plazo. Desafortunadamente, en una fracción de los pacientes se presentan efectos adversos. Las tasas de toxicidad por radiación en tejidos normales, varían según el sitio de tratamiento, la modalidad de radioterapia y la dosis prescrita. La severidad de la lesión se clasifica según una o más escalas diferentes (p. Ej., CTCAE o RTOG). La radiotoxicidad en el tejido sano puede ocurrir semanas, meses o años después de la exposición, y es el factor limitante de la dosis al planificar el tratamiento radiante, particularmente cuando puede comprometer la calidad de vida del paciente. Otra clase de efecto adverso después de la radioterapia son los segundos cánceres inducidos por radiación. Representan aproximadamente el 8% de los segundos tumores en pacientes con radioterapia, y ocurren de una manera dependiente de la dosis, más comúnmente dentro o junto al campo de irradiación. Dado que se sabe que los pacientes con cáncer tienen un mayor riesgo de desarrollar segundos cánceres, espontáneos o radioinducidos, el tema de la sensibilidad a la radiación es complejo. Los individuos pueden exhibir una radiosensibilidad normal, pero aun así, tener un mayor riesgo de cáncer inducido por radiación, debido a un aumento general de sus factores de riesgo y una mayor probabilidad de progresión maligna. También puede darse el caso que algunas personas presenten el perfil de riesgo opuesto, con una mayor sensibilidad del tejido normal pero sin una mayor susceptibilidad al cáncer.

Para el **radiodiagnóstico**, la cuestión relevante es la posible aparición de cánceres inducidos por radiación, ya que es poco probable que la exposición a la radiación supere los umbrales de dosis de toxicidad tisular, incluso en personas sensibles. Sin embargo, varias modalidades de imágenes pueden administrar dosis considerables de radiación, agravadas por imágenes repetidas o seriadas, que pueden contribuir a una dosis acumulada significativa durante la vida de una persona.

La **radiografía intervencionista** plantea los mismos problemas que el radiodiagnóstico, pero con el potencial añadido de dosis más altas en áreas localizadas, donde tejidos como la piel, el corazón, los pulmones, el abdomen o el cerebro pueden recibir dosis superiores a 1 Gy. Como tal, ocasionalmente estos procedimientos presentan informes de eventos tisulares adversos.

Desde el punto de vista de la Radioterapia, la investigación de los mecanismos de lesión del tejido normal y los biomarcadores relacionados, son clave para facilitar la personalización del tratamiento. Además, con los avances en radiobiología, la radioterapia adaptativa se está volviendo cada vez más frecuente en la práctica clínica. Asimismo, en relación a la protección radiológica, el estudio de la sensibilidad individual a la radiación es relevante tanto para la toxicidad

tisular como para el (segundo) cáncer inducido por radiación. En consecuencia, estas dos situaciones deben estar claramente separadas para evitar malentendidos, no solo desde un punto de vista científico, sino también a efectos regulatorios y legislativos, donde los perfiles de riesgo y las responsabilidades legales pueden diferir considerablemente.

El principal objetivo de este Capítulo es revisar los potenciales ensayos de detección de radiosensibilidad individual y evaluar su estado de validación actual, así como las ideas para enfoques futuros. En cuanto a los ensayos de radiosusceptibilidad, la distinción entre sensibilidad a la radiación y sensibilidad al cáncer (espontánea o inducida por radiación) hace que sea difícil concebir una prueba única que pueda identificar a todos los individuos radiosusceptibles, dada la variedad de vías biológicas en las que las variantes o mutaciones genéticas pueden modular el riesgo de cáncer inducido por radiación.

Requisitos de las pruebas de detección

El objetivo de las pruebas de detección es predecir una respuesta intrínseca anormal y desconocida de un individuo a la RI. Es importante que el oncólogo radioterapeuta y el radiólogo intervencionista conozcan de antemano si un paciente es más radiosensible de lo normal para poder adaptar el tratamiento o el procedimiento intervencionista. En un contexto más amplio, las personas pueden beneficiarse al saber que tienen un mayor riesgo de cáncer inducido por radiación. Así, identificar a las personas con mayor radiosusceptibilidad posiblemente sea importante en entornos industriales para la protección de los trabajadores o en entornos legales para asignar responsabilidades, obligaciones o compensaciones.

La oportunidad de utilizar ensayos celulares de radiosensibilidad / radiosusceptibilidad para identificar individuos en riesgo extremo de cáncer inducido por radiación se define por las limitaciones técnicas, clínicas y de salud pública de tales esfuerzos. A nivel técnico, estos ensayos deben ser viables, económicos, oportunos, altamente específicos y sólidos. A nivel clínico, deben ser reconocidos internacionalmente, basados en evidencia y respaldados por los organismos correspondientes. Así, para la validación preclínica como biomarcador predictivo de radiotoxicidad, un ensayo debe ser replicado por diferentes grupos mediante estudios prospectivos, y para la validación, debe mostrar mejoras para el paciente en ensayos de intervención.

No obstante, aunque se ha estimado que hasta el 80% de las diferencias en la toxicidad pueden explicarse por la variación intrínseca del paciente, hay otros factores a tener en cuenta que influyen en la probabilidad de desarrollar efectos secundarios. Estos incluyen dosis de radiación, técnica, fraccionamiento, otros tratamientos concomitantes, edad, tabaquismo y comorbilidades. En este apartado, no se consideran estos factores, ya que pueden tenerse en cuenta sin un examen adicional y no son estrictamente intrínsecos a un individuo. Sin embargo, se debe considerar de qué manera la enfermedad o el estilo de vida pueden cambiar las reacciones potenciales a la RI, tanto en los ensayos de detección como en escenarios de exposición reales.

Ensayos para la detección de personas con mayor riesgo de reacciones tisulares adversas inducidas por radiación

Las reacciones adversas desarrolladas por exposición médica pueden variar desde problemas estéticos hasta un daño orgánico que cambia la vida. Las mismas se dividen en tempranas y tardías; mientras las primeras ocurren durante o en las semanas posteriores a la irradiación y son en su mayoría transitorias, las reacciones tardías ocurren meses o años después y normalmente son irreversibles.

El esquema de calificación más comúnmente utilizado es CTCAE (Criterios de Terminología Común para Eventos Adversos), que califica a las reacciones en una escala de seis puntos: (0) ninguna; (1) leve; (2) moderada; (3) grave; (4) potencialmente mortal; y (5) muerte. Las reacciones de radioterapia de grado 4 y 5 son muy raras, y representan casos extremos de radiosensibilidad o errores en la dosimetría o en la administración de la dosis. Por lo tanto, la mayoría de los estudios tienen como objetivo predecir el grado 2 o 3. Las reacciones de grado 1 se consideran subjetivas, propensas a diferencias entre los calificadores y se excluyen, o no se consideran como reacción.

En cuanto a la radiosensibilidad, los ensayos deben poder establecer una correlación cuantitativa entre la dosis (en el rango de dosis relevante) y la escala clínica de complicaciones (grado 0 a 5). Una puntuación (o resultado) en el ensayo, debe definir la distribución de probabilidad (basada en datos clínicos) para un individuo, sobre los grados de toxicidad para un tratamiento de radioterapia estándar. Esta probabilidad de toxicidad es la que será útil tanto para los médicos como para los pacientes. Los ensayos pueden basarse en células vivas y sus respuestas a la irradiación, examinando características tales como cromosomas aberrantes, lesiones en el ADN y su reparación, o particularidades genéticas o genómicas en general.

Ensayos para la detección de individuos con mayor riesgo de cáncer inducido por radiación

Aunque la variación individual en el riesgo de cáncer inducido por radiación puede considerarse como una extensión de la radiosensibilidad individual, diferencias importantes debido a la naturaleza estocástica de la carcinogénesis por radiación justifican el uso del término distintivo, radiosusceptibilidad. Este término también describe mejor los mecanismos duales que podrían mediar un mayor riesgo de cáncer después de la exposición a radiación. Es decir, una mayor susceptibilidad a los eventos iniciadores de cáncer inducidos por radiación, o un aumento en la susceptibilidad a la progresión a malignidad a partir de una determinada célula iniciada. En el primer caso, la variación en la eficiencia y fidelidad del reconocimiento y la reparación del daño del ADN podría transmitir una mayor probabilidad de que las células alberguen una mutación iniciadora del cáncer que persista después de una determinada exposición a la radiación. En

este último, los rasgos genéticos preexistentes (por ejemplo, un sistema de vigilancia inmunológica menos eficaz o heterocigosidad para un gen supresor de tumores) pueden potenciar la progresión al cáncer en un individuo y no en otro. La radiosusceptibilidad teóricamente podría estar mediada por diferencias en los genes que regulan el control del ciclo celular, la apoptosis, la capacidad de respuesta del factor de crecimiento, además de la maquinaria canónica de reparación del ADN.

Figura 8.2



Nota. El problema multidimensional de la radiosensibilidad. La radiosensibilidad existe a través de múltiples escalas de personas y tiempo, dependiendo además de la organización tisular y de las características físicas de la irradiación. Este conjunto de variables dificulta la capacidad de predecir quién será sensible a los efectos tóxicos de la radioterapia.

Resumen de la situación actual

En la actualidad, no hay ningún ensayo de radiosensibilidad / radiosusceptibilidad de uso rutinario en la clínica y la mayoría aún tiene que avanzar a través de la etapa preclínica. Los ensayos específicos que han mostrado potencial predictivo de radiosensibilidad tisular temprana o tardía y que han progresado hasta la fase preclínica incluyen:

- Estudio de genes candidatos y de asociación de genoma completo
- Apoptosis de linfocitos inducida por radiación (ensayo RILA)
- Formación de focos inducidos por radiación (ensayo de focos)

Los ensayos adicionales que tienen datos preliminares o potencial teórico para predecir la radiosensibilidad tisular temprana o tardía, pero que aún no se han expandido a las pruebas preclínicas, o que han tenido resultados mixtos en las pruebas preclínicas, incluyen:

- Ensayos de daño y reparación del ADN inducidos por radiación (ensayo Cometa y micronúcleos, MN)
- Ensayos de supervivencia / muerte celular inducida por radiación (Ensayo clonogénico)
- Aberraciones cromosómicas inducidas por radiación
- Perfiles de expresión génica inducida por radiación
- Inmunofenotipificación
- Marcadores de senescencia
- Marcadores de imágenes (radiomics)

Estos ensayos se basan en gran medida en las vías canónicas de muerte celular y daño / reparación del ADN y casi todos utilizan células (o ADN) de la sangre. Asimismo, los potenciales ensayos de radiosusceptibilidad se superponen en gran medida con los de radiosensibilidad, con niveles similares de desarrollo y refinamiento, pero con menos evidencia que respalde su capacidad predictiva. Algunos ejemplos son: ensayo G2 (dado que la desregulación del ciclo celular es un paso importante de la propensión al cáncer, cualquier alteración en el punto de control de G2/M podría estar relacionado con la radiosusceptibilidad); ensayo de MN (este ensayo proporciona una medida de las rupturas cromosómicas residuales después de la exposición a RI, un exceso de MN también puede estar relacionado con la radiosusceptibilidad); ensayos de reparación incorrecta del ADN (se sugiere que, mientras que la radiosensibilidad es causada por roturas de ADN no reparadas, la propensión al cáncer está asociada con roturas de ADN mal reparadas).

Ensayo RILA

El ensayo de **Apoptosis de linfocitos inducida por radiación** (RILA del inglés: *Radiation-Induced Lymphocyte Apoptosis*), es un ensayo versátil, rápido y reproducible de radiosensibilidad específica del paciente. Consecuentemente es él que ha logrado el mayor progreso a través de la validación preclínica. Implica el cultivo de sangre completa de donantes, 24 horas antes de su irradiación con rayos X, seguida de otras 48 horas de cultivo. Al cuarto día, la muestra se prepara para citometría de flujo. Los linfocitos T citotóxicos se marcan con un anticuerpo CD8 y el ADN se marca con yoduro de propidio. Se utiliza citometría para cuantificar la proporción de células CD8+ que se encuentran en la última etapa de la apoptosis. Así, RILA se define como el porcentaje de muerte por apoptosis de linfocitos de sangre periférica inducida por una determinada dosis de radiación, menos la muerte celular espontánea. Se ha propuesto una relación inversa entre el porcentaje de apoptosis en linfocitos irradiados y la toxicidad tardía, es decir, la reducción en la apoptosis inducida por radiación de linfocitos es utilizada como predictor de una mayor probabilidad de toxicidad por radiación. Este hallazgo contrario a la intuición, donde se considera

que la apoptosis radioinducida esperada en linfocitos representa el caso 'normal', puede causar una confusión significativa y el mecanismo de esta asociación inversa aún no está claro.

Ensayo de focos

El ensayo de **formación de focos inducidos por radiación** (IRIF del inglés: *Irradiation induced foci*) es un método muy sensible para monitorear roturas de doble cadena del ADN y su reparación, utilizando dosis fisiológicamente relevantes. El ensayo consiste en la cuantificación de la formación de focos de γ H2AX (u otras proteínas asociadas a la maquinaria de reparación del ADN) en las DSB (del inglés: *double strand break*) y potencialmente la tasa de su pérdida después de la exposición a la radiación. Recientemente, se han desarrollado procedimientos para la cuantificación y el recuento automatizados, lo que permite que tenga una utilidad válida como biomarcador para evaluar la radiosensibilidad.

El ADN es el objetivo más importante de la exposición a la radiación para la supervivencia y la carcinogénesis. La respuesta al daño del ADN (DDR del inglés: DNA damage response), representa dos procesos: la transducción de señales y la reparación del ADN. Ambas vías interactúan, en tanto la reparación del ADN está regulada por la respuesta de señalización. Las proteínas quinasas humanas ATM (ataxia-telangiectasia, mutada) y ATR son centrales en la señalización iniciada por el daño del ADN. ATM es activado por ADN DSB (roturas de doble hebra), mientras que ATR responde a las regiones de ADN SSB (roturas de una sola hebra del ADN). Dado que las DSB son las lesiones biológicamente más relevantes inducidas por RI, y que activan la DDR, el proceso donde se han identificado los biomarcadores más útiles para detectar la sensibilidad a la radiación es en la señalización ATM.

Sintéticamente, los pasos en la respuesta de señalización ATM de relevancia para la detección y reparación de DSB, son los siguientes: cuando se censa un DSB en el ADN, se activa ATM y esta fosforila a H2AX, generando γ H2AX. Esto desencadena el ensamblaje de varias proteínas mediadoras de la respuesta al daño para formar focos inducidos por irradiación. El ensamblaje de estas proteínas culmina en el reclutamiento de 53BP1. Dado que H2AX solo se fosforila después de la activación de la DDR, γ H2AX proporciona una herramienta poderosa para monitorear la presencia de daño en el ADN. Se han generado anticuerpos γ H2AX muy específicos, permitiendo que los focos de γ H2AX en los DSB se puedan visualizar como focos discretos. Asimismo, 53BP1 representa un segundo marcador IRIF muy útil. En células no dañadas, 53BP1 es evidente como tinción de baja intensidad ya que la proteína se distribuye de manera difusa por todo el núcleo. Después de la exposición a la radiación, 53BP1 se concentra en IRIF, donde es visible como focos definidos.

El ensayo **ATM nucleoshuttling (ATM-NS)** utiliza inmunofluorescencia para monitorear la aparición de focos de ATM fosforilada (pATM) en núcleos de fibroblastos después de la irradiación. Se observa que la tinción para pATM disminuye en el citoplasma coincidente con la formación de focos nucleares, lo que los investigadores explican como el transporte de pATM desde

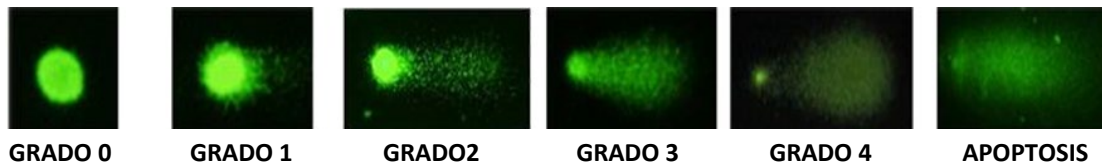
el citoplasma al núcleo. No obstante, la complejidad de este método obstaculizó su progresión en la práctica clínica. En consecuencia, el mismo grupo ha desarrollado un ensayo rápido que no requiere cultivo de fibroblastos, sino que fracciona el núcleo del citoplasma y luego cuantifica pATM por ELISA, pero el trabajo de desarrollo está en curso y el ensayo aún no ha sido probado por grupos independientes en cohortes de pacientes adicionales.

Ensayo Cometa

Durante aproximadamente los últimos 35 años, este ensayo se ha utilizado ampliamente para medir el daño y la reparación del ADN en células y tejidos. El ensayo cometa permite detectar las roturas de ADN presentes en cada célula. Debido a que se analizan las células individuales, las células muy dañadas o apoptóticas se pueden identificar y eliminar del análisis para determinar las tasas "verdaderas" de reparación de rupturas de cadenas de ADN. La importancia de medir el daño del ADN en células individuales radica en que hay muchos métodos capaces de medir roturas de ADN de una o dos hebras con buena sensibilidad, sin embargo, en células o tejidos heterogéneos, la respuesta promedio puede enmascarar la presencia de un pequeño número de células sensibles a la radiación. Otra ventaja importante de analizar células individuales es que se requieren relativamente pocas células. Esto hace posible realizar estudios clínicos utilizando células tumorales obtenidas de una única biopsia aspirada con aguja fina o células sanguíneas de un pinchazo en el dedo. El pequeño número de células requerido para este método, también hace que sea práctico combinar varias tecnologías de clasificación de células con el ensayo cometa.

El ensayo se basa en la electroforesis de células aisladas, embebidas en agarosa y colocadas sobre un portaobjetos de microscopio, que se lisan para formar nucleoides que contienen bucles superenrollados de ADN unidos a la matriz nuclear. Si el ADN está dañado, la electroforesis a pH alto da como resultado estructuras que se asemejan a los cometas, que son observadas por microscopía de fluorescencia después de teñir con un colorante de unión al ADN. La intensidad de la cola del cometa en relación con la cabeza refleja el número de roturas de ADN. La base probable de esto es que los bucles que contienen una rotura pierden su superenrollamiento y quedan libres para extenderse hacia el ánodo. La medición de cometas se puede realizar de dos maneras, mediante software de análisis de imágenes o mediante puntuación visual. Existen numerosos programas que permiten calcular los parámetros de fluorescencia de los cometas seleccionados por el operador. Los parámetros más utilizados son la longitud de la cola, la intensidad de fluorescencia relativa de la cabeza y la cola (normalmente expresada como un porcentaje de ADN en la cola) y el momento de la cola. La intensidad relativa de la cola es el parámetro más útil, ya que tiene una relación lineal con la frecuencia de rotura. Por otro lado, la puntuación visual es rápida y sencilla. El ojo humano se entrena fácilmente para discriminar grados de daño según la apariencia del cometa. Los cometas se pueden clasificar en 5 clases, desde 0 (sin cola) hasta 4 (casi todo el ADN en la cola), las células apoptóticas se registran por fuera de esta clasificación. En la figura se muestran las imágenes observadas al microscopio de fluorescencia.

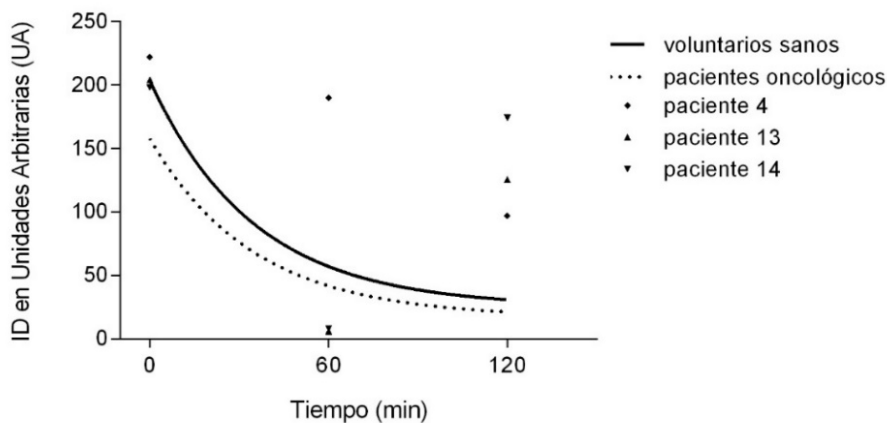
Figura 8.3. Clasificación de células según el grado de daño en el ADN por el ensayo Cometa.



Un particular enfoque en el uso del cometa, ha sido la propuesta realizada por nuestro grupo de investigación, de su uso para la instauración de un endofenotipo de radiosensibilidad individual. Las curvas de la cinética de reparación para voluntarios sanos y pacientes con cáncer esporádico podrían ser útiles en la identificación de potenciales individuos con mayor radiosensibilidad.

Figura 8.4

Cinética de reparación del ADN



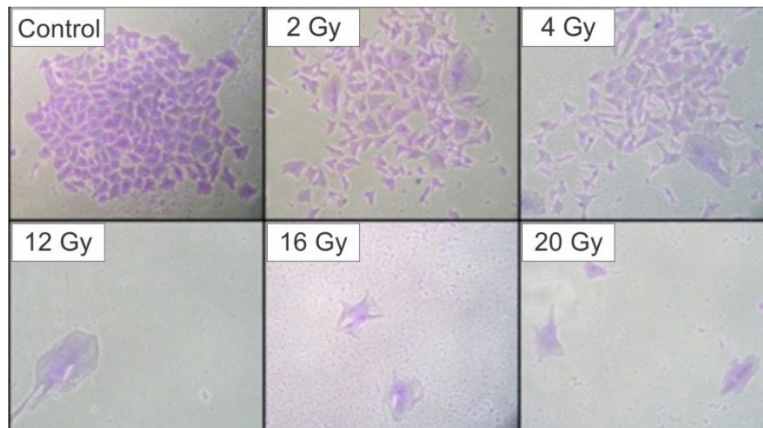
Nota. Cinética de reparación del ADN. En la figura se muestra el índice de daño en el ADN expresado en unidades arbitrarias en función del tiempo post irradiación de linfocitos de sangre periférica humana. Se analizaron muestras de voluntarios sanos, de un grupo de pacientes oncológicos que no presentan radiosensibilidad y de tres pacientes radiosensibles.

Ensayo clonogénico

El ensayo de sobrevivencia de células clonogénicas determina la capacidad celular de proliferar indefinidamente, conservando así su potencial reproductivo para formar una colonia. Por lo tanto, una célula que conserva su capacidad para sintetizar proteínas y ADN y pasar por una o dos mitosis, pero no puede dividirse y producir una gran cantidad de progenie, se considera “muerta”. Esto se conoce muy comúnmente como pérdida de la integridad reproductiva o muerte reproductiva. Por otro lado, una célula que no está muerta reproductivamente y que ha conservado la capacidad de dividirse y proliferar indefinidamente puede producir una colonia de células. Así, una curva de sobrevivencia celular se define como la relación entre la dosis del agente utilizado para producir una agresión y la fracción de células que retienen su capacidad para reproducirse.

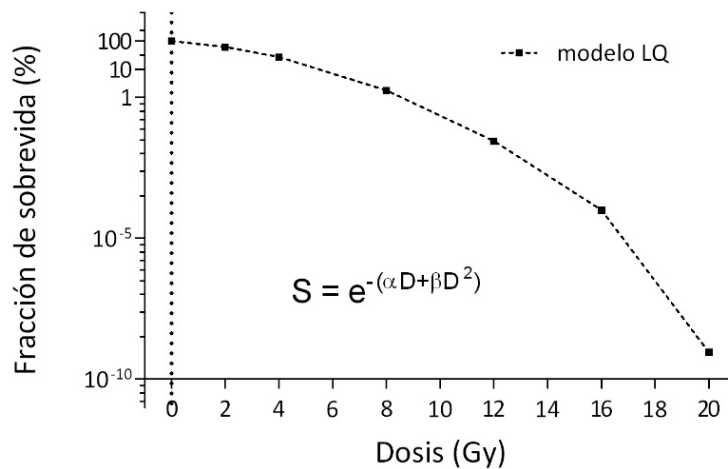
Metodológicamente, el ensayo consiste en preparar una suspensión de células de un cultivo en monocapa en crecimiento activo. Se cuenta el número de células por mililitro y se siembra un número conocido de células en una placa e incuba durante 10 a 14 días, permitiendo que cada célula individual se divida muchas veces y forme una colonia, visible a simple vista, especialmente si se fija y tiñe. Un grupo de células se considera una colonia si comprende aproximadamente 50 células. Todas las células que componen la colonia son la progenie de una sola célula. Si se sembraran por ejemplo 50 células, el número de colonias contadas puede oscilar entre 0 y 50. Lo ideal es que el número de colonias contadas fuera 50, pero rara vez es el caso por varias razones, incluido el medio de crecimiento subóptimo, errores en el conteo de células sembradas y la manipulación general. La siguiente figura corresponde a una visualización microscópica con aumento 100X de colonias obtenidas de un cultivo celular sometido a distintas dosis de irradiación.

Figura 8.5



Nota. Ensayo clonogénico en células A549 sometidas a irradiación con 2, 4, 12, 16 y 20 Gy y control sin irradiar (Gentileza Lic. Yuliana Banegas)

Figura 8.6



Nota. Representación del modelo Lineal Cuadrático (LQ del inglés: linear quadratic). Se grafica FS vs Dosis. Se utiliza en radioterapia para proyectar cual es la fracción de sobrevivida para cada tipo tumoral. En el caso de la radioterapia hipofraccionada, este valor se calcula principalmente para dosis de 2Gy.

El término eficacia de siembra en placa (EP) indica el porcentaje de células sembradas en una placa que finalmente crecen para formar una colonia.

$$EP = \frac{\text{Número de colonias contadas}}{\text{Número de células plaqueadas}} \times 100$$

Después de determinar la EP, se calcula la fracción de células que sobreviven (FS) a un tratamiento dado. La EP de la muestra control (el máximo valor posible, considerado el 100%) se utiliza para normalizar la eficacia de la siembra en placa de las muestras tratadas. La fracción superviviente se determina dividiendo la EP de las muestras tratadas por la EP de los controles y luego multiplicando por 100.

$$FS = \frac{EP \text{ de muestras tratadas}}{EP \text{ del control}} \times 100$$

Finalmente se grafica FS en función del tratamiento (Figura 8.6).

Análisis de aberraciones cromosómicas

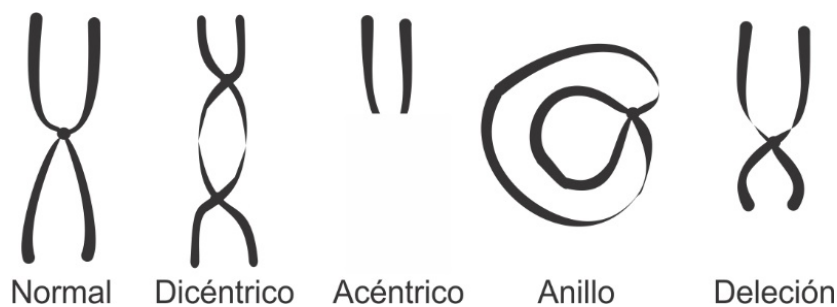
Tal como se mencionó previamente, la irradiación produce lesiones en los cromosomas, que pueden ser reparadas o no. Es así como se originan posteriormente las denominadas “aberraciones cromosómicas” (AC). Las AC son el indicador biológico de actividad genotóxica más ampliamente utilizado para evaluar la exposición a mutágenos y agentes carcinogénicos. Con la técnica de dosimetría citogenética se puede determinar el daño producido en las células de un organismo. El ensayo consiste en observar al microscopio aberraciones de los cromosomas de linfocitos T de sangre periférica humana. Estos cambios incluyen: anillos, cromosomas dicéntricos (con dos centrómeros), cromosomas acéntricos (sin centrómero), fracturas de cromosomas, y deleciones o poliploidía (cambio en el número de cromosomas).

Se ha documentado que las AC podrían gatillar una inestabilidad genómica y posteriormente el desarrollo de cáncer. Un biomarcador basado en el análisis de las aberraciones cromosómicas podría hacer posible la estimación del riesgo de contraer cáncer. Por lo tanto, las aberraciones cromosómicas en sangre periférica humana son un parámetro reconocido de daño celular y se emplean como indicadores de exposición a radiación ionizante y a ciertos químicos. No obstante, existen diversos factores que pueden jugar un papel importante en el procedimiento metodológico, provocando una discordancia en los resultados entre laboratorios. Estas diferencias se pueden deber a una discrepancia del análisis de las anomalías cromosómicas encontradas; a los cultivos en sí, a cambios en los procedimientos de irradiación, calibración de las dosis y condiciones y al tipo radiación utilizada, entre otras. Asimismo, la respuesta biológica a la radiación varía entre tejidos y organismos. Por esta razón se aconseja realizar curvas de calibración propias de muestras de sangre expuestas a dosis establecidas de radiación *in vitro*.

El ensayo se basa en tomar una muestra de sangre periférica del miembro superior ya sea de individuos no expuestos a radiación (para realizar una curva de calibración control) como de individuos expuestos a radiación. La muestra se divide en alícuotas, conservando las condiciones de asepsia necesarias para optimizar los cultivos. Cada alícuota se coloca en botellas de cultivo con medio óptimo y condiciones controladas. La estimulación en la división y proliferación de los linfocitos se logra mediante la adición de phytohemaglutinina. Posteriormente, se detiene la mitosis adicionando colchicina. Los cultivos se sacrifican, fijan y colorean, y se analizan 500 metafases por individuo para cada dosis de radiación. El análisis de las metafases se realiza mediante conteo de aberraciones cromosómicas en microscopio óptico.

Existen otros métodos que complementan el análisis citogenético, como el de micronúcleos (MN). La relación entre la aparición de aberraciones cromosómicas y de MN es muy estrecha, pero algunas veces se ha visto una frecuencia de MN más baja que la de los fragmentos acéntricos (FA), encontrándose curvas dosis-respuesta lineales positivas con tendencia a la saturación a altas dosis. Sin embargo, se emplea más frecuentemente los MN como examen de rutina dada su fácil lectura.

Figura 8.7. Esquema de los diferentes tipos de aberraciones cromosómicas.



Ensayo de micronúcleos

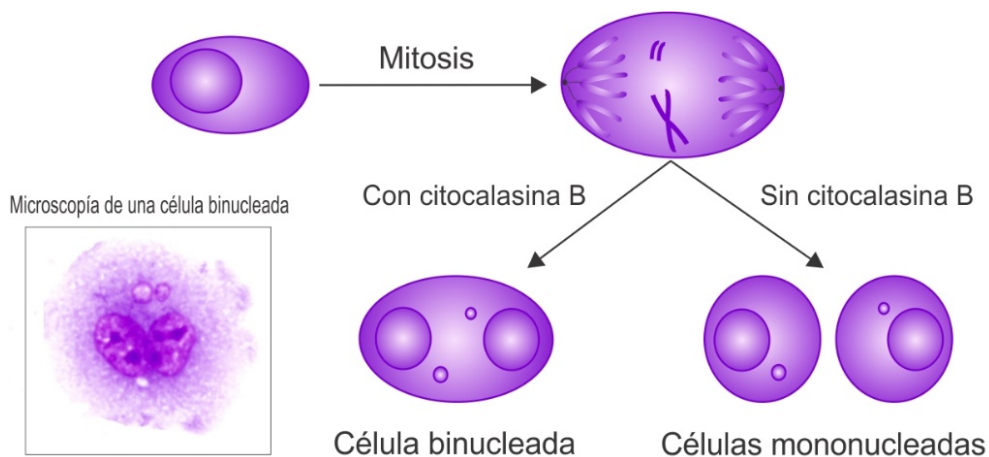
Los micronúcleos (MN) son pequeñas estructuras que contienen ADN, localizadas por separado del núcleo celular. Dependiendo de su formación, pueden contener cromosomas completos o fragmentos cromosómicos. Se generan en respuesta a diversos factores que dañan el genoma y su presencia en las células es un marcador de estrés genotóxico e inestabilidad genética. Además, en algunas enfermedades se encuentran células que contienen micronúcleos, p. Ej. en tumores, enfermedades autoinmunes y síndrome de envejecimiento prematuro.

La formación de MN puede ser causada por factores químicos y físicos. Dependiendo de los mecanismos, estos factores se dividen en clastogénicos y aneugénicos. Los aneugénicos producen alteraciones cromosómicas numéricas, por ejemplo aneuploidía y son consecuencia de la segregación anormal de los cromosomas y conducen a la formación de MN que contienen cromosomas intactos. Los clastogénicos provocan alteraciones en la estructura de los cromosomas,

se muestran como rupturas en el ADN, inhibición de la síntesis y de la replicación del ADN dañado y conducen a la formación de micronúcleos que incluyen fragmentos acéntricos de cromosomas. La mayoría de los factores físicos muestran un efecto clastogénico, entre ellos se encuentran la radiación, el ultrasonido y los cambios de presión y temperatura, entre otros.

Aunque todos los ensayos de MN se basan en el análisis de la frecuencia de los micronúcleos, varían en términos de células y protocolos utilizados. La versión más popular de MN es el ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis (CBMN). Los MN se cuentan en células binucleadas, donde la citocinesis (partición del citoplasma de una célula que da como resultado dos células hijas durante el proceso de división celular) se detiene mediante adición de *citocalasina B*. Dado que el MN es visible sólo después de la división celular, la *citocalasina B* que inhibe la polimerización de los filamentos de actina y la formación de microfilamentos contráctiles se utiliza para detener la citocinesis, sin embargo, no detiene la cariocinesis (división del núcleo de la célula), por lo que se forman células binucleadas con MN presente en su citoplasma. El CBMN se realiza predominantemente en linfocitos de sangre periférica humana para estudiar la formación *in vivo* de MN para biomonitoreo o dosimetría biológica. Asimismo, se utiliza con mucha frecuencia en muestras de sangre *in vitro* para estudiar los efectos genotóxicos de diversos factores.

Figura 8.8



Nota. Esquema de la formación de micronúcleos debido a la pérdida de un cromosoma entero y fragmentos cromosómicos de tipo acéntricos. Además se muestra una microscopía de células Chok1 binucleadas. Microscopía gentileza Dra. Noelia Nikoloff

Radiogenómica

La genómica de la radiación (radiogenómica), investiga la manera en que la variación genética puede ayudar a explicar las diferencias en la toxicidad temprana y tardía, de la exposición a radiación entre individuos, es decir, los cambios genómicos que subyacen a esta respuesta, tanto en tejidos normales como tumorales. Sin embargo, en ésta revisión no sólo nos centramos en el estudio genómico, sino también transcriptómico de la respuesta biológica a la

exposición a radiación. Cabe aclarar que la ómica es el estudio de la totalidad de "objetos" de una naturaleza determinada. Entonces, la genómica estudia el genoma y la transcriptómica estudia el transcriptoma.

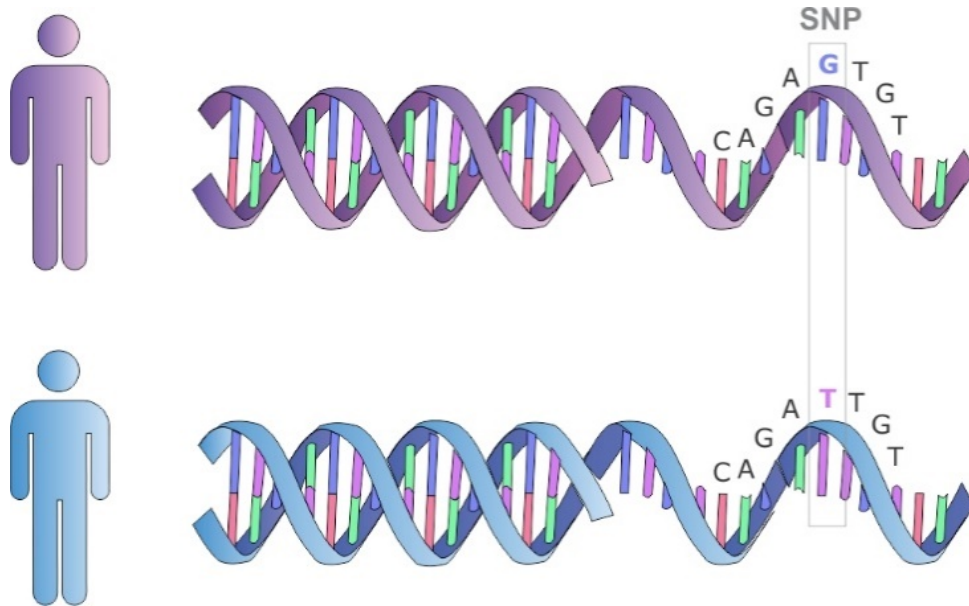
El campo de la radiogenómica ha progresado desde estudios de genes candidatos hasta estudios de asociación de genoma completo (GWAS del inglés: Genome-wide association study) y metanálisis. La genotipificación es cada vez más sofisticada y asequible, y la secuenciación del genoma completo pronto estará disponible como herramienta de diagnóstico en la clínica. El objetivo final de la investigación en radiogenómica es adaptar el tratamiento al individuo, con una prueba basada en una combinación de tratamiento, factores clínicos y genéticos. Esta personalización permitiría el mayor control tumoral y minimizaría la toxicidad aguda y a largo plazo. La integración de la radiogenómica en la oncología radioterápica tiene el potencial de personalizar una forma ya precisa de terapia contra el cáncer.

Análisis a nivel del genoma

Variaciones genéticas

La radiosensibilidad es un rasgo poligénico afectado por múltiples genes y vías biológicas. Hay principios clave de variación genética que sustentan el estudio de la radiogenómica. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son variaciones de la secuencia de ADN que ocurren cuando se altera un solo nucleótido dentro de un gen. Las variantes más frecuentes en el genoma humano consisten en SNP e inserciones o deleciones de unos pocos nucleótidos. Pero existen también otro tipo de variantes genéticas menos frecuentes, las variantes estructurales incluyen deleciones, inserciones, duplicaciones e inversiones. Por otro lado, las variaciones del número de copias (CNV) son grandes secciones del genoma en regiones específicas, que se repiten y el número de repeticiones varía entre individuos. Estas formas de variación genética ocurren tanto en áreas codificantes como no codificantes del genoma. Menos del 3% del genoma humano es ADN que se transcribe y se traduce en proteínas; el resto tiene una función reguladora importante y regiones de unión para potenciadores y silenciadores de la transcripción, reguladores de la metilación de genes, modificadores de la estructura de la cromatina y ARN no codificantes con función reguladora. Cualquiera de estos elementos puede desempeñar un papel en la determinación de la radiosensibilidad de una persona. El análisis de SNP es muy apropiado para su asociación con un punto final adverso del tejido normal, ya que solo requiere que el ADN para el análisis sea de una fuente de tejido normal y no de un tumor. Esto se debe a que los SNP son constitucionales; es decir, se encuentran en todas las células normales, incluidas las células sanguíneas.

Figura 8.9. Esquema de una variación genómica de tipo SNP.



Estudios de genes candidatos

Los primeros estudios de radiogenómica fueron pequeños y adoptaron el enfoque del gen candidato. Se sabe o se cree que los genes candidatos están implicados en el desarrollo de la toxicidad de la radioterapia, como los implicados en la reparación del daño en el ADN (p. Ej., ATM, BRCA1, BRCA2, TP53, XRCC1), la actividad antioxidante (p. Ej., SOD2, GSTP1), la fibrogénesis inducida por radiación (p. Ej., TNF, IL1, IL6, TP53, BCL2, TGF β) y el daño endotelial (p. Ej., VEGF). La hipótesis que subyace a los estudios de genes candidatos es que, dado que se sabe que las mutaciones homocigotas raras afectan la radiosensibilidad, los SNP comunes en estos genes tendrían efectos menores en nuestro fenotipo de interés. Por supuesto, el principal inconveniente de los estudios de genes candidatos es que requieren algún conocimiento a priori de la función del gen, lo que significa que se pasan por alto genes desconocidos implicados en el fenotipo. Los rasgos poligénicos involucran una combinación de variantes raras con efectos grandes, variantes moderadamente comunes con efectos moderados y cientos de variantes comunes con efectos pequeños. Cualquier enfoque en genes candidatos en radiogenómica, por lo tanto, pasa por alto la naturaleza poligénica de la radiosensibilidad.

Estudios de asociación de todo el genoma

El campo de la radiogenómica avanzó hacia los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) para permitir una investigación exploratoria libre de hipótesis. La ventaja de GWAS es que estudian todos los SNP, incluidos aquellos en regiones reguladoras y áreas del genoma cuya función aún no se comprende completamente. La suposición subyacente de GWAS es que los SNP en muchos genes contribuyen a la variación genética en la población, pero no hacen suposiciones sobre qué SNP o genes son importantes en el proceso biológico

relevante. Por lo tanto, los GWAS de rasgos y enfermedades buscan variantes genéticas comunes, cada una con pequeños efectos. Cada vez más, se reconoce la importancia de comprender la regulación de la expresión génica y el papel de los SNP y esto puede evaluarse en el análisis de locus de rasgos cuantitativos de expresión en GWAS. Estos análisis se centran en la evaluación del control regulador ejercido por determinados loci sobre la expresión de genes que influyen en un fenotipo.

Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS), pueden requerir que decenas de miles de pacientes permitan identificar porcentajes modestos de loci genéticos asociados con un fenotipo determinado. Además, estos hallazgos son estrictamente asociaciones y no deben considerarse causales hasta que estén funcionalmente caracterizados. La accesibilidad de los materiales, los avances en las metodologías analíticas, la capacidad de realizar pruebas más grandes, las bibliotecas de SNP (12 millones en la base de datos SNP) y la acumulación continua de conjuntos de datos avanzará en el uso de GWAS, y la cantidad de pacientes requeridos podría disminuir.

Hasta el momento...

Tres polimorfismos genéticos encontrados por estudios de genes candidatos han replicado evidencia de asociación con reacciones adversas. Se ubican cerca o en los genes ATM, TNF α y XRCC1. Estos estudios se realizaron en pacientes con cáncer de mama y de próstata, y consistieron en varios miles de pacientes. Por otro lado, se han encontrado asociaciones adicionales mediante estudios de asociación de todo el genoma (GWAS), incluidos los genes TANC1, SATB2 y CCRN4L. Las asociaciones genéticas encontradas hasta la fecha, explican solo una pequeña proporción de la heredabilidad de los fenotipos de radiosensibilidad, y los datos sugieren que la contribución genética restante está compuesta por cientos de variantes que son comunes en la población, pero con un tamaño de efecto pequeño, aunque la presencia de variantes raras adicionales con efectos de gran tamaño no se pueden descartar.

Los estudios realizados destacan que los esfuerzos continuos en radiogenómica son valiosos y deben continuar. A nivel tumoral, es necesario aumentar los cánceres estudiados, para cubrir todos aquellos en los que la radioterapia tiene un papel en el tratamiento potencialmente curativo. La mayoría de los estudios publicados se han centrado en pacientes con tumores malignos de próstata o mama. A nivel genético, existe la posibilidad de evaluar otros tipos de variación genética, como inserciones, deleciones y CNV de nucleótidos, que pueden evaluarse en GWAS. El análisis genético se está volviendo más rápido, más rentable y más disponible. A nivel de aplicación, es necesario generar y validar puntuaciones de riesgo poligénico que formen parte de modelos clínicos.

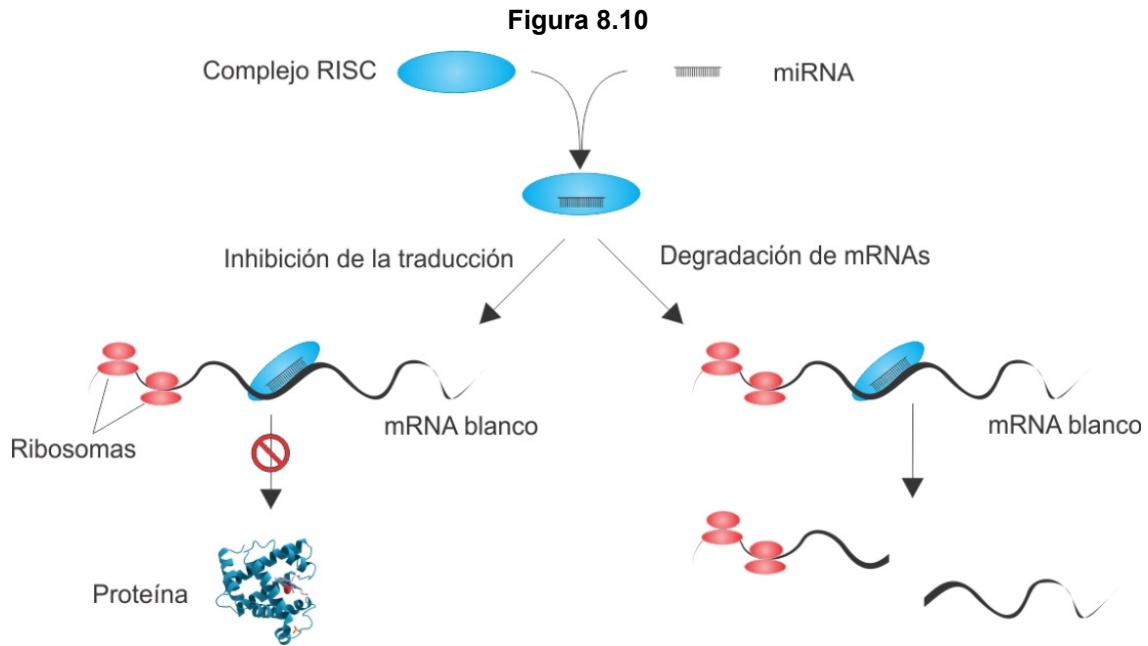
Análisis a nivel del transcriptoma

ARN codificante

La respuesta de las células tumorales y los tumores se ha estudiado predominantemente mediante análisis de transcriptomas. Los estudios iniciales identificaron a la reparación del ADN y la señalización del punto de control del ciclo celular, como vías clave alteradas en la respuesta a las exposiciones a la radiación de baja LET. Además se observó que los genes y las vías clave variaban según el tipo de célula (células leucémicas frente a tumores o tejidos sólidos). Asimismo, la respuesta de las células a las exposiciones a tasas de dosis bajas identificó genes inducibles a tasas de dosis bajas con implicaciones para la carcinogénesis y otros riesgos, no previstos a partir de experimentos con tasas de dosis altas. A partir de estos resultados, distintos grupos de investigación, realizaron estudios para identificar firmas de sensibilidad a la radiación usando la sobrevivencia celular como medida y diversos paneles de líneas celulares. Así, si bien se identificaron conjuntos de genes asociados con la radiosensibilidad, no hubo superposición en las firmas de genes.

ARN no codificante

Otro nivel de transcriptómica que se muestra prometedor en la comprensión de los procesos biológicos estudia los denominados ARN no codificantes (ncRNA). Estos ARN que no se traducen en proteínas abarcan alrededor del 70% del genoma, y provienen de regiones que antiguamente eran consideradas como ADN basura, pero contrariamente a esto, tienen una amplia gama de funciones biológicas. Los ncRNA de mayor interés para la respuesta a la radiación de células y tejidos de mamíferos son los microRNA (miRNA), que generalmente tienen una longitud de 18 a 22 nucleótidos. Los ncRNA largos (lncRNA), que tienen más de 200 nucleótidos de longitud, también son de interés, pero en menor grado, simplemente porque carecemos de conocimientos específicos sobre su papel en la radiorespuesta de las células de mamíferos. Se han identificado más de 2500 miRNA en humanos. Los miRNA son reguladores negativos de la expresión génica, que operan postranscripcionalmente para inhibir la traducción o potenciar la degradación de un mRNA específico. Esta función reguladora cubre una amplia gama de procesos celulares, tales como el desarrollo del organismo, la proliferación celular, las vías de muerte celular, la regulación del ciclo celular y la reparación del ADN. Los miARN pueden actuar como oncogenes silenciando genes supresores de tumor o regulando la división celular, y como supresores de tumor al suprimir oncogenes o activando vías de muerte celular. Muchos estudios han identificado la expresión alterada de miRNA después de la radiación ionizante y han estudiado cómo la alteración de la expresión de miRNA puede alterar la radiosensibilidad. Estos cambios a menudo ocurren a través de alteraciones en: la expresión de proteínas clave de la DDR; proteínas reguladoras del ciclo celular; regulación de especies reactivas de oxígeno celulares y proliferación de genes de apoptosis tales como p53, ATM, ATR, NFKB y BCL2.



Nota. Esquema de los probables mecanismos de acción de los miRNAs. Estos RNAs pequeños son cargados en el complejo RISC (del inglés: RNA-induced silencing complex) y lo guían hasta el mRNA blanco, que es reconocido por identidad de secuencia. Una vez identificado el mRNA, pueden actuar de dos formas: inhibiendo la traducción del mRNA a proteína, mediante el bloqueo del accionar de los ribosomas, o degradando el mRNA mediante su clivaje en una región de secuencia específica.

No obstante, el análisis de miRNAs tiene algunos desafíos: cada miRNA es capaz de regular múltiples genes, por lo tanto, se dificulta la identificación de los genes diana (mRNAs sobre los cuales el miRNA tiene efecto); La identificación de mRNAs diana a menudo no es confirmada por la biología sino más bien se basa en una probabilidad de interacción. No obstante, ciertos miRNAs se asocian con cánceres específicos y, lo que es más importante, con la baja radiorespuesta de cánceres específicos, como el glioblastoma, de mama, gástrico y cánceres de cabeza y cuello. En tal sentido, se ha desarrollado una firma de miRNAs para la radiosensibilidad en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). Además, los cambios en los miRNAs circulantes se han utilizado para el pronóstico del glioblastoma (después de la radioquimioterapia posoperatoria) carcinoma de células escamosas de esófago, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, y HNSCC. En resumen, estas asociaciones pueden servir como indicadores pronósticos de la respuesta terapéutica, ayudar a desarrollar indicadores de recurrencia de la enfermedad y servir para el desarrollo de diagnósticos a partir de sangre, orina o saliva.

Síndromes de radiosensibilidad individual

Como mencionamos previamente en este capítulo, si bien los eventos tisulares adversos inducidos por la radiación y los cánceres están relacionados, cada vez hay más pruebas de que la toxicidad y la carcinogénesis tienen bases moleculares diferentes. Por lo tanto, a continuación

se describen diferentes grados de manifestación de radiosensibilidad individual y se destacan aquellas patologías que además se asocian con una mayor radiosusceptibilidad.

Eventos tisulares fatales postradioterapia

La mayoría de los casos fatales posteriores a la radioterapia se observaron luego de la irradiación de cuerpo completo de niños con AT (ataxia telangiectasia), para el tratamiento de su leucemia o linfoma. La AT es una enfermedad genética rara, asociada con mutaciones homocigóticas en ATM, proteína esencial en la señalización para la reparación del daño de doble cadena en el ADN (DSB). La AT se considera el síndrome genético más radiosensible. Asimismo, existen otros casos de eventos fatales posteriores a la radioterapia, los cuales son causados por mutaciones homocigóticas de la ADN ligasa IV (LIG4), proteína esencial para la reparación del DSB por unión de extremos no homólogos (NHEJ). Ambas patologías están asociadas con un mayor riesgo de contraer cáncer (leucemias y linfomas).

Síndromes de radiosensibilidad con defectos de reparación de DSB

Se trata de síndromes genéticos que se caracterizan porque la mayoría de los genes mutados participan en la reparación de DSB, pero se asocian con una radiosensibilidad menos marcada que en los casos del punto anterior. Estos síndromes comparten una serie de características clínicas y biológicas comunes, como inestabilidad genómica, producción anormal de aberraciones cromosómicas, inmunodeficiencia y en general, propensión al cáncer. Son ejemplos de este grupo: Síndrome de Nijmegen (mutaciones homocigotas en NBS1 con propensión a leucemia y linfoma); trastorno similar a AT (mutaciones en MRE11); Anemia de Fanconi (mutaciones de genes FANC y mayor riesgo de leucemia, carcinoma de células escamosas y cáncer de mama); Síndrome de Bloom (mutaciones de BLM con propensión a leucemia y linfoma); Xeroderma pigmentoso (mutaciones de genes XP y mayor riesgo de cáncer de piel); Síndrome de Cockayne (mutaciones de CS con mayor riesgo de cáncer de piel para algunos tipos de mutaciones). Otra particularidad de estas sintomatologías es que las células con mutaciones de diferentes genes pueden mostrar una radiosensibilidad celular similar (por ejemplo, mutaciones de genes XP y CS) y por el contrario aquellas mutaciones en el mismo gen pueden mostrar diferente grado de radiosensibilidad (mutaciones en ATM).

Síndromes de radiosensibilidad “sin defectos directos de reparación de DSB”

Se trata de síndromes de radiosensibilidad que no están asociados directamente con defectos en la reparación de DSB, aunque se identifican por el mismo rango de características celulares y clínicas de los síndromes de la sección anterior. Estos síndromes están causados por mutaciones de genes cuyas proteínas se localizan en el citoplasma o la membrana nuclear, pero no necesariamente en el núcleo. Además, algunos de ellos se asocian con neurodegeneración progresiva, debido a su esperanza de vida reducida; en general los pacientes no presentan cáncer.

Son ejemplos: el Síndrome de Hutchinson-Gilford (mutaciones homocigotas de lámina A); Enfermedad de Bruton (mutaciones homocigotas de BTK); Síndrome de Gorlin (mutaciones de PTCH1 mayor propensión a cáncer de piel no melanoma).

Radiosensibilidad generalmente encontrada en radioterapia

Alrededor del 5 al 20 % de los pacientes con cáncer pueden experimentar algunas respuestas tisulares anormales (p. ej., inflamaciones, infecciones, ulceraciones, fibrosis, necrosis, dermatitis y rectitis) en diversas situaciones, durante poco o mucho tiempo después de finalizar la radioterapia, sin que ello implique errores en la entrega de la dosis.

Si bien existe una evidencia creciente de eventos tisulares adversos posteriores a la radioterapia en un número significativo de pacientes, estos eventos generalmente se observan según la experiencia local de cada oncólogo. Para cuantificar la gravedad de los eventos tisulares posteriores a la radioterapia, se propusieron algunas escalas de clasificación: las más utilizadas han sido los Criterios de Terminología Común para Eventos Adversos (CTCAE) y los criterios de toxicidad del Grupo de Oncología Radioterápica (RTOG). Además, dado que una determinada gravedad de los eventos tisulares corresponde a un determinado exceso de dosis, el nivel de radiosensibilidad debe depender de la dosis. Por lo tanto, los ensayos moleculares y celulares que predicen la radiosensibilidad también deben reflejar ese exceso de dependencia de la dosis.

Por último, hay que destacar que estos eventos de radiosensibilidad informados por los oncólogos radioterápicos después o durante la radioterapia se encuentran en pacientes distintos de aquellos con síndromes de hiperradiosensibilidad o síndromes genéticos caracterizados en las secciones previas.

Conclusiones

Se podría concluir que la investigación significativa y el desarrollo de ensayos se han dirigido a los nodos clave en la carcinogénesis inducida por radiación y a la toxicidad tisular (daño y reparación del ADN, muerte celular), y si bien la mayoría de los ensayos muestran una promesa inicial para variantes raras y de alto impacto, muestran una sensibilidad y especificidad reducidas cuando se prueban en entornos clínicos. Es razonable esperar que, aunque los ensayos pueden sufrir de variabilidad experimental o requieran de un mayor desarrollo, existen otros factores que contribuyen a que estas fallas ocurran. Primero, **no se puede esperar que un solo ensayo prediga cada tipo de rasgo de sensibilidad o susceptibilidad**, ya que los mismos implican una amplia variedad de mecanismos. En segundo lugar, no todos los casos de toxicidad o cáncer inducido por radiación se deben a variaciones individuales en la sensibilidad o susceptibilidad. En tercer lugar, no todas las personas con mayor sensibilidad o susceptibilidad desarrollarán toxicidad tisular o cáncer inducido por radiación.

Por lo tanto, es razonable suponer que la implementación de múltiples ensayos celulares y biomarcadores, combinados con análisis genómicos e incluso modalidades adicionales como

enfoques radiómicos para datos de imágenes clínicas y métricas fisiológicas como el estado inmunológico, proporcionará mucha información actualmente nula. Todos los ensayos líderes actuales se beneficiarán de enfoques complementarios y una competencia saludable en los esfuerzos cooperativos internacionales para impulsar mejoras en todas las plataformas.

Referencias

- Figura 8.1. Bolaño E. (2021). <https://historia-arte.com/autores/emiliabolano>
- Andreassen CN, Schack LM, Laursen LV, Alsner J. (2016). Radiogenomics - current status, challenges and future directions. *Cancer Lett.* 382(1):127-136.
- Barnett G, Thompson D, Fachal L, Kerns S, Talbot C, Elliott RM, et al. (2014). A genome wide association study (GWAS) providing evidence of an association between common genetic variants and late radiotherapy toxicity. *Radiother Oncol.* 111(2):178-85.
- Bentzen SM. (2006). Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nat Rev Cancer.* 6:702-713.
- Britel M, Bourguignon M, Foray N. (2018). The use of the term 'radiosensitivity' through history of radiation: from clarity to confusion. *Int J Radiat Biol.* 94:1-31.
- Brothwell MRS, West CM, Dunning AM, Burnet NG, Barnett GC. (2019). Radiogenomics in the Era of Advanced Radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 31(5):319-325.
- Chaudhry MA. (2014). Radiation-induced microRNA: Discovery, functional analysis, and cancer radiotherapy. *J. Cell. Biochem.* 115: 436-449.
- Chen Y, Trotti A, Coleman NC, Machtay M, Mirimanoff RO, Hay J, O'Brien PC, El-Gueddari B, Salvajoli JV, Jeremic B. (2006). Adverse event reporting and developments in radiation biology after normal tissue injury: International Atomic Energy Agency consultation. *Int J Radiat Oncol Biology Phys.* 64:1442-1451.
- Ciccia A, Elledge SJ. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol. Cell.* 40:179-204.
- Collins AR. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol.* 26(3):249-61.
- Constine LS, Ronckers CM, Hua C-H, Olch A, Kremer LCM, Jackson A, Bentzen SM. (2019). Pediatric Normal Tissue Effects in the Clinic (PENTEC): an international collaboration to analyse normal tissue radiation dose-volume response relationships for paediatric cancer patients. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 31:199-207.
- Cosset JM, Hetnal M, Chargari C. (2018). Second cancers after radiotherapy: update and recommendations. *Radioprotection.* 53:101-105.
- Cozzarini, C. (2015). Radiation induced lymphocyte apoptosis: an effective way of "tailoring" radiotherapy to the right patients only? *EBioMedicine.* 2(12), 1852-1853
- Crane C, Zamora HH, Bermúdez AJ, Barreto HG, Pardo CE, Ahumada JJ. (1994). Análisis de aberraciones cromosómicas para dosimetría citogenética. *Acta Médica Colombiana Vol. 19 N° 6.*

- Fhoghlú MN, Barrett S. (2019). A Review of Radiation-Induced Lymphocyte Apoptosis as a Predictor of Late Toxicity After Breast Radiotherapy. *J Med Imaging Radiat Sci.* 50(2):337-344.
- Foray N, Bourguignon M, Hamada N. (2016). Individual response to ionizing radiation. *Mutat Res.* 770:369-386.
- Gomolka M, Blyth B, Bourguignon M, Badie C, Schmitz A, Talbot C, Hoeschen C, Salomaa S. (2019). Potential screening assays for individual radiation sensitivity and susceptibility and their current validation state. *International Journal of Radiation Biology.*
- Granzotto A, Benadjaoud MA, Vogin G, et al., (2016). Influence of nucleoshuttling of the ATM protein in the healthy tissues response to radiation therapy: toward a molecular classification of human radiosensitivity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 94(3):450-460
- Habash M, Bohorquez LC, Kyriakou E, Kron T, Martin OA, Blyth BJ. (2017). Clinical and functional assays of radiosensitivity and radiation-induced second cancer. *Cancers.* 9:147.
- Ioannidis JP, Bossuyt PM. (2017). Waste, leaks, and failures in the biomarker pipeline. *Clin Chem.* 63:963-972.
- Kisurina-Evgenieva OP, Sutiagina OI, Onishchenko GE. (2016). Biogenesis of micronuclei. *Biochemistry Moscow.* 81, 453-464.
- Moller P. (2018). The comet assay: ready for 30 more years. *Mutagenesis.* 33(1):1-7.
- Munshi A, Hobbs M, Meyn RE. (2005). Clonogenic cell survival assay. *Methods Mol Med.* 110:21-8.
- Ocolotobiche EE, Dauder RM, Güerci AM. (2021). Radiosensitivity of radiotherapy patients: The effect of individual DNA repair capacity. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 867:503371.
- Olive PL. (2009). Impact of the comet assay in radiobiology. *Mutat Res.* 681(1):13-23.
- Ozsahin M, Crompton N, Gourgou S, Kramar A, Li L, Shi Y, Sozzi W, Zouhair A, Mirimanoff RO, Azria D. (2005). CD4 and CD8 T lymphocyte apoptosis can predict radiation-induced late toxicity: a prospective study in 399 patients. *Clin Cancer Res.* 11:7426-7433.
- Pereira S, Bodgi L, Duclos M, Canet A, Ferlazzo ML, Devic C, Granzotto A, Deneuve S, Vogin G, Foray N. (2018). Fast and Binary Assay for Predicting Radiosensitivity Based on the Theory of ATM Nucleo-Shuttling: Development, Validation, and Performance. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 100(2):353-360.
- Pointreau Y, Kreps S, Hennequin C. (2010). Evaluation des effets secondaires des radiations ionisantes. *Cancer Radiother.* 14:246-249.
- Prasanna PG, Stone HB, Wong RS, Capala J, Bernhard EJ, Vikram B, Coleman CN. (2012). Normal tissue protection for improving radiotherapy: Where are the Gaps? *Transl Cancer Res.* 1(1):35-48.
- Ramos-Avasola S, Rivera D, Segura K, Thraves E, Durán A, Soto V, Gamarra J, Ojeda MI. (2020). Análisis citogenético en linfocitos de trabajadores expuestos a radiación ionizante en una unidad de cardiología intervencional de Chile: Estudio piloto y revisión de la literatura. *Revista chilena de cardiología,* 39(1), 8-15.

- Roch-Lefevre, Mandina T, Voisin P, Gaetan G, Mesa JE, Valente M, Bonnesoeur P, Garcia O, Roy L. (2010). Quantification of gamma-H2AX foci in human lymphocytes: a method for biological dosimetry after ionizing radiation exposure. *Radiat. Res.* 174:185-194.
- Sommer S, Buraczewska I, Kruszewski M. (2020). Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 21(4):1534.
- Tan J, Lin X, Chua K, Lam P, Soo K, Chua M. (2017). Exploiting molecular genomics in precision radiation oncology: a marriage of biological and physical precision. *Chin Clin Oncol* 6(S2), S19.
- Tureson I, Nyman J, Holmberg E, Oden A. (1996). Prognostic factors for acute and late skin reactions in radiotherapy patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 36, 1065-1075.
- Warmerdam DO, Kanaar R. (2010). Dealing with DNA damage: relationships between checkpoint and repair pathways. *Mutat. Res.* 704:2-11.
- Yard B, Chie E, Adams D, Peacock C, Abazeed M. (2015). Radiotherapy in the era of precision medicine. *Semin Radiat Oncol.* 25(4), 227-236.

CAPÍTULO 9

Generalidades del tratamiento radiante

Gustavo Ferraris

Figura 9.1. *Dormitorio en Arlés. Vincent Van Gogh.*



Nota. <https://historia-arte.com/obras/dormitorio-en-arles>

Introducción

La radioterapia es una modalidad de tratamiento ampliamente utilizada en oncología, que consiste en la utilización de radiaciones ionizantes como medio terapéutico. Constituye una de las mayores opciones en el manejo de patologías oncológicas. De acuerdo con las mejores prácticas disponibles de medicina basada en evidencia, el 53% de los pacientes recibe radioterapia

por lo menos una vez durante su tratamiento del cáncer. Asimismo, junto con otros procedimientos médicos como cirugía o quimioterapia, juega un rol importante en el abordaje del 40% de los pacientes que serán curados. Este tratamiento también es altamente efectivo como opción paliativa, en el control de síntomas y para tumores avanzados o recurrentes.

El proceso del tratamiento radiante es complejo y requiere de los conocimientos de física médica, radiobiología, protección radiológica, dosimetría, planificación, simulación e interacción de las radiaciones con otras modalidades terapéuticas. Podemos afirmar que a lo largo de las últimas décadas, la radioterapia ha contribuido a mejorar el control tumoral local, lo que impactó favorablemente en la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes comprometidos por este grupo de enfermedades, ya sea como modalidad radiante exclusiva o en carácter adyuvante, luego del aporte de otras especialidades. De esta manera, se entiende que siga siendo el tratamiento no quirúrgico más importante en el manejo del cáncer. En adición, se destaca que en los últimos años, se han desarrollado significativos avances tecnológicos en el área, por lo que existe un desafío para el clínico en ejercicio, mantenerse actualizado y aprovechar este progreso de la mejor manera posible para el manejo de los pacientes.

Los procesos necesarios para la administración segura de la radioterapia moderna comprenden un largo camino desde la decisión terapéutica hasta la verificación y entrega del tratamiento, que implica la administración de rayos X externos o haces de electrones. Para los protocolos más complejos, esto involucrará la utilización de dispositivos de inmovilización sofisticados y de alta precisión, como así también la realización de tomografías computarizadas (TAC), resonancias magnéticas (RMN) y tomografías de emisión de positrones (PET), localización del volumen guiado por imágenes, y sistemas de planificación física complejos y cada vez más precisos, con algoritmos de última generación para explicar las inhomogeneidades del tejido y las variables del haz y, finalmente, el uso de aceleradores lineales de alta energía con colimadores de hojas múltiples (MLC), con capacidad para la radioterapia conformada y de intensidad modulada, y la posibilidad de brindar orientación por imágenes en línea previo y/o durante la administración del tratamiento.

En la actualidad el estándar de atención reconocido para el tratamiento radical de los tumores, es la Radioterapia de intensidad modulada (IMRT), como así también otras modalidades de irradiación, la Arcoterapia Volumétrica (VMAT y Tomoterapia) junto con la Radioterapia Estereotáctica Craneal y Extra-craneal (SBRT - SRS) para la administración de dosis altas más precisas y altamente conformadas. Se destaca que estas técnicas se encuentran actualmente disponibles en nuestro país. Sin embargo, a pesar de esto, los principios básicos de la radioterapia siguen sin alterarse.

La radioterapia es una terapia locorregional, con intención curativa para el tratamiento radical de tumores en sus primeras etapas, con altas tasas de éxito donde no ha habido diseminación metastásica. En caso de tumores diseminados el control local ha demostrado ser excelente. No obstante, los pasos básicos de la administración del tratamiento siguen siendo:

- Definir la posición del paciente por medio de dispositivos para reproducir esa posición día a día, con la inmovilización adecuada y confortable.

- Localizar y definir en forma precisa el volumen a ser cubierto con dosis de prescripción y evitando al mismo tiempo abarcar los órganos vecinos sanos.
- Colaboración con físicos médicos con el fin de identificar los medios óptimos para llevarlo a cabo.

El proceso de implementación diaria del plan terapéutico es de vital importancia para garantizar una radioterapia precisa y eficaz junto con la verificación de su administración, a fin de reproducir el tratamiento propuesto como se define en el proceso de planificación.

Este capítulo provee un resumen de las nociones básicas de los protocolos radiantes con la intención de lograr un entendimiento principal de la Radioterapia por parte de estudiantes de disciplinas relacionadas, incluyendo generalidades como bases físicas, biológicas y aspectos técnicos de interés.

Generalidades de la Física de la Radioterapia

Radiaciones: Naturaleza y origen

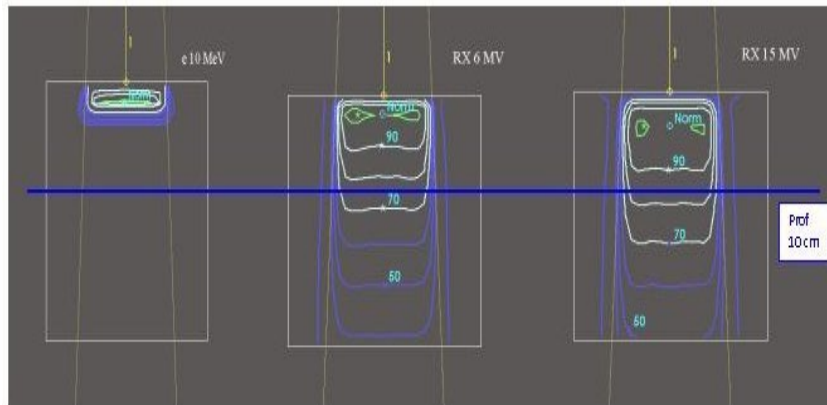
La radiación es un fenómeno físico que permite la transferencia de energía a través del espacio. Se asigna el nombre de *fente* al punto del cual emanan las radiaciones y a partir del cual se puede predecir una trayectoria, a lo largo de la misma se desarrolla la interacción de las radiaciones con la materia que compone el medio ambiental. En general la radiación se difunde en forma similar a la luz, es decir, en haces divergentes de trayectoria rectilínea en todos los sentidos del espacio a partir de la fuente.

Hay dos tipos de radiaciones ionizantes: las corpusculares y las electromagnéticas. Las radiaciones *corpusculares*, como su nombre lo indica, surgen de la movilización en el espacio de alguna partícula de masa conocida. La energía de este tipo de haz es mayor cuanto mayor es la masa y más elevada la velocidad de desplazamiento de la partícula, produciendo por lo general una importante ionización (o cesión de energía), en la superficie de interacción o a poca distancia de ella, con un rápido decaimiento de la capacidad de ionizar en profundidad. El haz de este tipo más empleado en la clínica de la radioterapia, es el de electrones, elegido para tratar lesiones superficiales y proteger los tejidos sanos más profundos. Variando la energía del haz, se podrá definir un espesor de distribución de la dosis útil en función del espesor del tejido blanco a irradiar. En instalaciones especiales se pueden emplear también otras partículas (neutrones, protones o iones carbono), las cuales son aceleradas a velocidades muy altas generando distribuciones de dosis complejas e impacto biológico de características distintivas, que escapan al interés de este capítulo por su menor disponibilidad clínica y su escasa relevancia en el tratamiento de la patología oncohematológica.

El segundo tipo de radiaciones son las *electromagnéticas*. Estas radiaciones dependiendo del fenómeno estudiado, se comportan como una onda sinusoidal o como un flujo de partículas, que

con finalidad didáctica se describen como fotones (dualidad onda-partícula). Se trata de “partículas” sin masa que viajan a través del espacio a una velocidad uniforme (que es la velocidad de la luz) y presentan una energía que es directamente proporcional a su frecuencia de oscilación. En términos de la transferencia de energía, ésta suele depositarse en forma gradual al atravesar la materia, por lo cual permiten acceder con niveles significativos de dosis hasta regiones profundas del organismo (para una profundidad determinada se depositará un mayor porcentaje de la dosis máxima cuanto mayor sea la energía) prosiguiendo durante todo su trayecto con el depósito de energía hasta niveles imperceptibles. Se trata entonces del haz más conveniente para tratar localizaciones tumorales profundas (mediastino, retroperitoneo). En la clínica radioterapéutica las energías más empleadas van entre los 4 - 6 y los 15 - 18 megaelectron-volts (Mev) como se muestra en la Figura 9.2.

Figura 9.2



Nota. Curvas de Isodosis de diversos tipos de Haces sobre material Tejido-Equivalente. En la imagen se pueden comparar las curvas de isodosis correspondientes a campos independientes de 10 x 10 cm provenientes de distintos tipos de haces (de izquierda a derecha: Electrones de 10 Mev, Fotones de 6 Mv y Fotones de 15 Mv). Nótese el mayor rendimiento en profundidad de los haces de fotones en comparación con el haz de electrones y la variación entre los dos primeros en función de la energía.

Cuando nos referimos a las radiaciones en el contexto terapéutico oncológico, debe recordarse que nos referimos a radiaciones de tipo ionizante, es decir, las que poseen energía suficiente como para producir ionización en el medio con el cual interactúan. Este fenómeno se produce cuando por depósito de energía se pierden electrones de las orbitas atómicas más externas, resultando en un desequilibrio de cargas eléctricas del átomo o molécula afectada, que acentúa la avidez combinatoria química. De la combinación química resultante, suele producirse una alteración biológica-funcional, que puede impactar a la célula si se da en una magnitud significativa.

Existen tres modalidades terapéuticas en radioterapia: la teleterapia (o radioterapia externa), en la cual el tejido blanco se encuentra apartado de la fuente, la braquiterapia, donde el tejido blanco se encuentra en íntimo contacto con la fuente, y la radioterapia metabólica, en la que se administra en forma endovenosa, un compuesto que contiene una fuente radiactiva abierta que a través del metabolismo normal se acumula en determinados tejidos donde ejercerá su efecto

benéfico. Según la modalidad clínica empleada y el tipo de distribución de dosis necesaria en cada caso, puede ser deseable bloquear a través de blindaje las emisiones que surgen en las direcciones espaciales no deseadas para generar un haz de tamaño y dirección controlados. En general para el tratamiento de este tipo de patologías la modalidad más empleada es la radioterapia externa.

Dosis de radiación

El concepto de dosis en radioterapia es muy importante ya que provee un valor de uso cotidiano en el diseño de tratamientos (prescripción, fraccionamiento, distribución) y una referencia para evaluar el riesgo de complicaciones de cada situación clínica. La dosis es una cantidad de energía depositada por unidad de masa de tejido. Las unidades empleadas rutinariamente son los Gy (Gray) y cGy (centi Gray: $1\text{Gy}=100\text{cGy}$). Si bien ha quedado en el pasado, el uso del Rad como unidad de dosis (puede encontrarse la referencia en ciertos textos antiguos) mencionamos que 1 Rad equivale aproximadamente a 1cGy.

Tratándose de radiaciones ionizantes, este depósito de energía guarda una relación directamente proporcional al nivel de ionización producido en el medio y como veremos más adelante en la sección de radiobiología, el nivel de ionización alcanzado representa el puntapié inicial en la cascada de eventos biológicos que definirá el efecto clínico producido por la combinación de haces en el tumor y los tejidos normales que lo rodean. Sin duda ha sido grande y significativo el avance producido en la especialidad con la incorporación de computadoras y programas de cálculo que facilitan la predicción e interpretación de la distribución espacial de la dosis, generándose gráficos capaces de exhibir su conformación en superposición a las imágenes de las estructuras anatómicas del paciente (Sistemas de Planificación de Tratamiento).

Del acumulo de experiencia publicada en la especialidad podemos reconocer cual es el nivel adecuado de dosis para tratar satisfactoriamente una determinada neoplasia y el nivel de dosis que no debe ser superado para evitar efectos tóxicos en los tejidos normales.

Fuentes de Radiaciones Ionizantes

Las radiaciones ionizantes acompañan al hombre desde su aparición en la Tierra. Existe un nivel de radiación “de fondo” al que nos hallamos expuestos por habitar este planeta. Estas radiaciones provienen del espacio (radiaciones cósmicas atenuadas por la atmósfera) y de la propia tierra debido a la presencia de elementos radiactivos en la misma.

Desde el punto de vista del uso terapéutico de las radiaciones, debemos mencionar dos fuentes principales: los radioisótopos y los equipos productores de radiaciones. El primer caso se trata de elementos que en forma natural o modificados por el hombre, son capaces de emitir radiación para alcanzar un estado de mayor equilibrio energético a nivel atómico.

Los más empleados en la clínica actual son el Cobalto, el Iridio, el Cesio, el Iodo y el Paladio. Cada uno de ellos tiene un tipo de emisión característico, una energía que le es propia y una determinada vida media. Del análisis de estas características surge el uso clínico más eficiente de cada isótopo (Tabla 9.1). En el abordaje radioterapéutico de las lesiones oncológicas, en general, es poco frecuente el empleo de la braquiterapia (BQT), por lo cual los radioisótopos quedan limitados exclusivamente al uso en Radioterapia Externa como fuente de radiación en las Unidades de Cobaltoterapia.

Tabla 9.1. Radioisótopos de uso frecuente en Radioterapia.

Radioisótopo	Característica	Uso Clínico
Cobalto	Alta energía fotones	Unidades de RT Externa
Iridio	Tamaño / energía	Fuentes BQT alta tasa dosis
Cesio	Decaimiento lento	Fuentes BQT baja tasa dosis
Yodo	Baja energía	Fuentes BQT implante dosis
Palladio	Baja energía	Fuentes BQT implante dosis

Generación de la radiación: Aspectos históricos

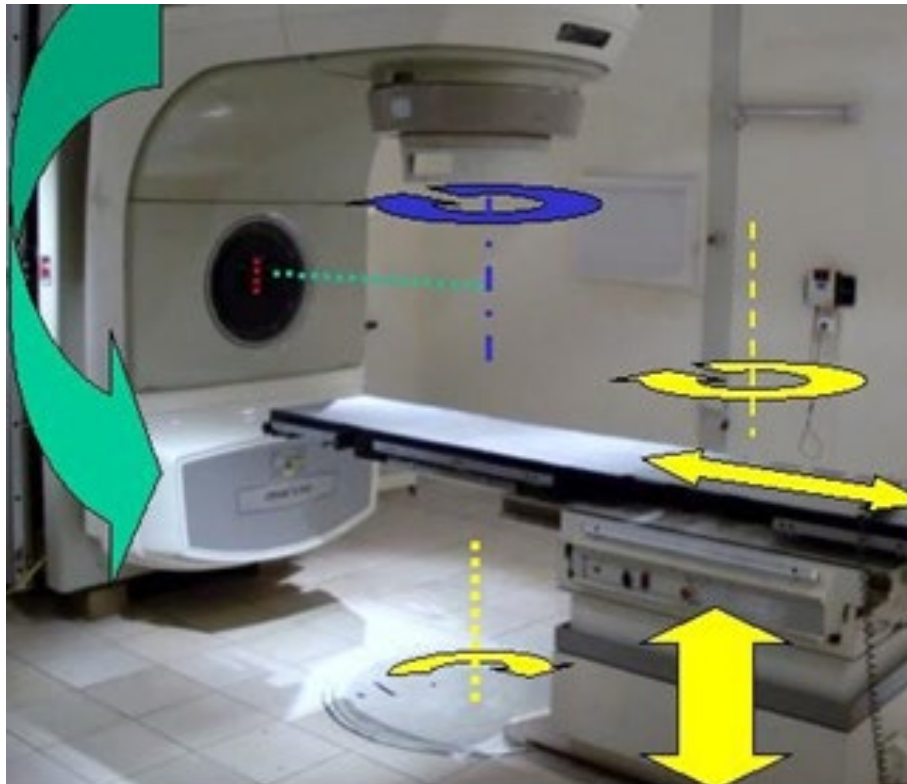
Los equipos generadores de radiación, teleterapia, han sufrido una evolución importante. Inicialmente se fabricaban equipos de Rayos X de baja energía, ortovoltage, con baja penetración en los tejidos. Posteriormente llegaron equipos de alta energía, los aceleradores lineales y las bombas de cobalto. La bomba de cobalto utiliza el isótopo radiactivo cobalto 60 para producir rayos gama de 1.25 megavolts. El auge de la maquina cobalto se debió a que era mecánicamente sencilla y barata. En la actualidad ha sido remplazada por los aceleradores lineales, equipos muy superiores en energía, ductilidad y precisión. Los equipos productores de radiaciones consisten en su mayoría de dispositivos electromecánicos, estos *Aceleradores Lineales* proveen de haces de fotones de una o más energías (las más usadas son la combinación de 6 y 18 megavolts), que en algunos casos pueden también proveer de haces de electrones (*Aceleradores Lineales Duales*). Estos haces se producen al alimentar con alta tensión un tubo al vacío en el cual se produce una nube de electrones que luego son acelerados y conducidos a través de un campo electromagnético de alta intensidad utilizando microondas. Este método de generación es muy semejante al empleado en los tubos de rayos X de los equipos de diagnóstico, pero en este caso la energía del haz producido es mucho mayor.

Los electrones acelerados pueden emplearse como tales en los equipos duales o generar un haz secundario de fotones al interactuar con un blanco construido con elementos de alto peso molecular. Una vez generado el haz deseado, este es modificado en su sección de corte por los colimadores, que definirán un formato de campo rectangular (en el caso de

colimadores standard) o un formato solicitado por el usuario, en el caso de contar con colimadores de hojas múltiples.

En general y respondiendo al diseño clásico de los equipos de radioterapia externa, el acelerador cuenta con una camilla donde el paciente es posicionado y un cabezal o gantry, en el cual se encuentran los colimadores y a través de los cuales surge el haz de radiación. El cabezal esta montado en un arco en “C” que permite el giro a cualquier ángulo de incidencia alrededor de la camilla, incluyendo incidencias posteriores.

Figura 9.3



Nota. Acelerador Lineal sobre el cual se encuentran graficados los ejes y sentidos de rotación de sus diversos componentes. Colimador: color azul, Cabezal o Gantry: color verde, Camilla: color amarillo.

El avance tecnológico constante, ha favorecido el desarrollo de equipos complejos que pueden ser controlados digitalmente en todos los aspectos de su funcionamiento y que en algunos casos también incorporan prestaciones de imágenes para adquirir información anatómica del paciente con fines de control de calidad o replanificación del tratamiento (imágenes portales 2D o Tomografía “on board” para reconstrucción 3D).

El tratamiento en profundidad de los temas físicos de la radioterapia excedería el alcance de este capítulo, por lo cual remitimos a lectores interesados a consultar otras fuentes bibliográficas: Khan, 2003; Miller, 1995; Mould, 1993; Halperin et al., 2008.

Interacción del haz de radiaciones con los tejidos

Como ya mencionamos, la radioterapia emplea radiaciones ionizantes como instrumento terapéutico. Estas radiaciones van a producir, al interactuar con los diversos tejidos que componen el organismo, un cierto depósito de energía. Las características de este suceso varían en función del tipo de radiación utilizada y la densidad de la materia receptora, pero serán siempre un fenómeno independiente de la calidad (en cuanto normales o neoplásicos) de los tejidos receptores; es decir, que la ventaja terapéutica o efecto selectivo de la radioterapia no se explica a través de los mecanismos de depósito de dosis.

Una vez producido este evento se generan modificaciones a distintos niveles: atómico-moleculares en primera instancia (expulsión de electrones de las orbitas atómicas externas de los átomos o moléculas con los cuales interactúa), las cuales van a inducir una cascada de eventos de tipo bioquímico (combinación con otras moléculas próximas) que a su vez alteraran el medio interno de las células alcanzadas.

Figura 9.4. *Secuencia temporal de eventos producidos por la radiación en la célula.*



Las moléculas así modificadas necesariamente alteran su capacidad funcional en detrimento del proceso metabólico con el cual estaban comprometidas. Si es mayor la relevancia funcional de la molécula afectada, mayor será el impacto biológico. Además cuanto mayor la dosis depositada en una célula, mayor es la probabilidad de afectar un número elevado de moléculas importantes, siendo la más relevante el ADN nuclear. Cuando la magnitud del daño es considerable, se produce la muerte celular. Pensando que nuestro organismo está compuesto en un 70 % por agua, resulta claro que gran parte de las ionizaciones se producirán sobre esta sustancia. Producto de su ionización en presencia de oxígeno, surgen los llamados radicales libres, que son especies altamente reactivas al tomar contacto con moléculas vecinas. Esta reacción de los

radicales libres y su entorno a veces afectan al ADN. En general, con el tipo convencional de radiaciones de fotones empleados en clínica radioterapéutica, se considera que 2/3 del efecto biológico producido se da a través de la interacción con el agua (efecto indirecto de la radiación) mientras que el tercio restante se produce por daño directo sobre la estructura del ADN celular (efecto directo de la radiación).

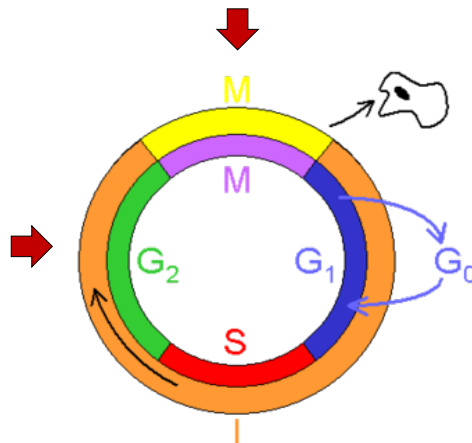
Como se vio en capítulos iniciales, el daño producido por las radiaciones ionizantes sobre el ADN puede expresarse en sus componentes constitutivos. Las rupturas de doble cadena son las lesiones más importantes inducidas por la radiación y se producen de manera directamente proporcional a la dosis depositada en un determinado tejido. Su número residual, luego de la reparación, guarda una relación linear-cuadrática con la dosis. Esto significa que a dosis bajas por fracción, en células con reparación eficiente, la curva de supervivencia celular evidencia un hombro (porción en la cual pequeños aumentos de dosis por fracción no generan reducción de supervivencia equivalente). Al aumentarse la dosis por fracción, la relación pasa a ser cuadrática o directamente proporcional en la escala semilogarítmica. En células en las cuales los mecanismos de reparación son defectuosos (ataxia telangiectasia) la relación es directamente proporcional en todo el espectro de dosis, desapareciendo el hombro inicial. Este tipo de lesión ejerce gran contribución a la radiosensibilidad, por ser la base de la letalidad celular.

El balance entre la magnitud del daño ocasionado y la capacidad de reparación celular definirá la suerte de cada célula individual y si un número suficiente de células es alcanzado por este fenómeno impactará finalmente sobre la totalidad del órgano o tejido que las contiene. Se procura inducir un daño potencialmente capaz de controlar la enfermedad neoplásica con una mínima toxicidad en los tejidos sanos alcanzados. Resulta clave para esto, un adecuado fraccionamiento de la dosis total de radiación a administrar, que facilite la reparación completa en las células normales, mientras lleve a la acumulación de daño en las células neoplásicas.

Fase del Ciclo Celular y sensibilidad al daño por radiación

Clásicamente se reconoce una alta sensibilidad a los efectos de la radiación de las células que atraviesan las fases de mitosis (M) y la fase G2. Con la sucesión de múltiples fracciones de irradiación se detecta una suerte de sincronización de las células supervivientes, ya que las mismas comienzan a transitar el ciclo a partir de las fases menos sensibles. Evidencia reciente, parece confirmar que esta acumulación de células irradiadas en algunas de las fases del ciclo celular, no se debe exclusivamente a la mortalidad celular en las fases del ciclo más sensibles, sino también a la inducción por el estímulo radiante, de genes que regulan el proceso.

Figura 9.5. Ciclo celular y fases más sensibles de la radioterapia (flechas rojas).



Daño celular por radiaciones

Desde el punto de vista didáctico la radiobiología define diversos tipos de daño celular producido por la acción de la radiación.

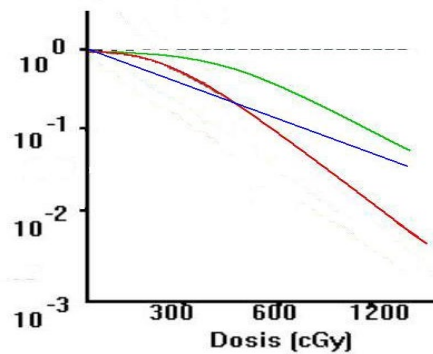
Daño Letal: puede concretarse en forma inmediata con la pérdida total de toda actividad metabólica o en forma diferida, conservando la célula la capacidad de concretar una o dos divisiones, pero conduciendo inexorablemente a la desaparición de las células engendradas. Desde el punto de vista radiobiológico, resulta fundamental la inhibición de la capacidad clonogénica, independientemente del tipo de muerte celular. Es sabido que las células pueden morir por diferentes mecanismos y que la proporción en la que se ejecuta cada uno de ellos es propia de los distintos tipos de tejidos, o de las diferentes etapas en la evolución de los mismos. Estas vías suelen estar alterados en la célula neoplásica y contribuyen en forma importante a la variación en la radiosensibilidad específica de las distintas células, tejidos y tumores.

Daño subletal: no resulta suficiente para llevar a la célula a su deceso, ya que los procesos de reparación son eficaces y posibilitan a la célula proseguir indefinidamente con su actividad metabólica y de multiplicación. Resulta claro que desde el punto de vista terapéutico, será el objetivo del tratamiento radiante conducir a las células tumorales hacia la muerte a través del daño letal, mientras se procura que los daños producidos en los tejidos normales sean pasibles de ser reparados para evitar la toxicidad. Es aquí donde la naturaleza anárquica de los procesos metabólicos de la célula neoplásica, permite la elaboración de una estrategia de control tumoral selectivo a través del tratamiento radiante: su capacidad de reparación del daño inducido es menos eficiente que en las células normales. Por este motivo los esquemas de tratamiento radioterapéutico (fraccionamiento de dosis) cuentan con la administración diaria de niveles de radiación relativamente bajos, entregados durante varias semanas; en las horas que una fracción se separa de otra (generalmente 24 para el tipo de neoplasias que nos ocupa, aunque solo 6 son

las mínimas necesarias) las células normales pueden reparar el daño inducido, mientras que en las neoplásicas la reparación es incompleta y posibilita acumular un nivel de daño conducente a su muerte. Esta diferencia se evidencia experimentalmente en las curvas de supervivencia a fracciones únicas y acumuladas de radiación. (Figuras 9.6 y 9.7)

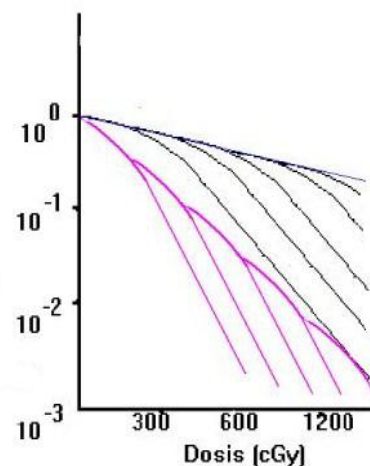
Daño Potencialmente Letal: es el que potencialmente causaría una muerte celular, pero puede ser evitado por determinadas condiciones del medio celular luego de recibida la dosis. En general se cree que en el caso de los tumores radiosensibles este proceso de reparación es ineficiente mientras todo lo contrario sucedería en los radioresistentes.

Figura 9.6



Nota. Curvas de Supervivencia celular a dosis única de radiación. Sobre las ordenadas se representa en escala logarítmica el porcentaje de células sobrevivientes luego de cada dosis única de radiación (escala lineal sobre abscisas). Luego de administrar diversas dosis en cultivos celulares independientes se construye un gráfico. En los tejidos normales presenta una porción curva a dosis son bajas y otra lineal a dosis mayores (en verde). Ciertas patologías afectan los mecanismos de reparación y generan una curva sin hombro (en azul). Es importante observar que la pendiente de la curva suele ser mayor para los tejidos tumorales: para una misma dosis el porcentaje de células que sobreviven es menor (en rojo).

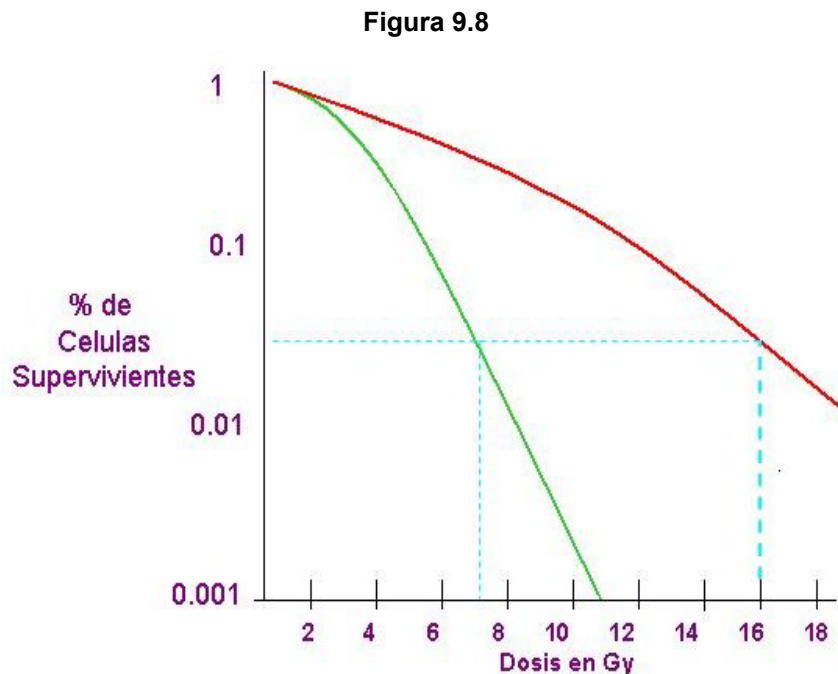
Figura 9.7



Nota. Curva de Supervivencia con dosis acumulativas de radiación. Se representa el efecto acumulado de dosis sucesivas de radiación de igual magnitud (dosis fraccionada). En los tejidos tumorales (líneas rosadas) la mayor pendiente en la curva de respuesta a dosis únicas da lugar a una progresiva y evidente reducción del porcentaje total de células supervivientes, conduciendo paulatinamente a controlar la enfermedad, mientras en tejidos normales (en azul) la pérdida total celular es ostensiblemente menor.

Papel del oxígeno en el daño por radiaciones

Como se ha mencionado oportunamente, la formación de radicales libres (responsables de la acción indirecta de las radiaciones) depende de la presión parcial de oxígeno del medio celular, al momento de la interacción. Existe un gran número de tumores que presentan porciones hipoxicas en su interior, variables según literatura entre un 15 al 50 % según la histopatología. El análisis patológico evidencia que cuanto mayor es la distancia que separa a una célula tumoral del capilar más cercano, menor es el tenor de oxígeno presente. Este fenómeno es raro en tejidos normales, pero la naturaleza anárquica de los vasos tumorales, la alta multiplicación celular y la tendencia a la anemia de estos pacientes conducirán a la formación de áreas hipoxicas tumorales.



Nota. Efecto oxígeno. Para inducir un mismo porcentaje de muerte celular en condiciones de hipoxia (en rojo) se requiere una dosis aproximadamente 2.3 veces mayor (16 Gy / 7 Gy = 2.28 OER).

Dado que la presión parcial de oxígeno es participante necesaria en el daño por radiaciones producido por vía indirecta, su ausencia condiciona la reducción de la eficiencia de la radiación. La proporción de muerte celular inducida por una misma dosis de radiación sobre un tumor en condición hipoxica versus oxigenación normal es la llamada “tasa de mejora por oxígeno” (OER del inglés). En general esta tasa alcanza valores de 2.5 a 3.

Planificación y ejecución de la radioterapia

Optimización del tratamiento radiante

Existen diversas estrategias que permiten optimizar el tratamiento radiante, de manera tal que se maximice el efecto terapéutico (control de la lesión tumoral y las zonas de riesgo por compromiso subclínico) y se minimice el efecto tóxico (reducción de probabilidad de complicaciones) en los tejidos sanos que circundan o contienen a la lesión. Discutiremos diversos métodos de optimización, que se emplean corrientemente en el tratamiento radiante de la enfermedad oncológica.

Fraccionamiento

Como ya hemos mencionado la elección de una determinada dosis de radiación a emplear en forma diaria no es casual, sino que responde a la necesidad de producir un daño considerable en los tejidos neoplásicos mientras el daño a los tejidos sanos es pasible de reparación por los mecanismos celulares normales.

La acumulación diaria de dosis produce un efecto acumulativo de daño en el tumor, reduciendo el número de células supervivientes luego de cada fracción a aproximadamente la mitad. Dada la característica de alta sensibilidad a la radiación de las lesiones linfoides, suele emplearse una única fracción diaria con dosis de 180 a 200 cGy, cinco días a la semana (fraccionamiento standard) en su tratamiento. Al no ser necesarios altos niveles de dosis acumulada para controlar la enfermedad ya que la sensibilidad a la radiación de estos tumores suele ser alta, los tratamientos son generalmente bien tolerados y no se alcanzan las dosis de tolerancia de los tejidos normales adyacentes.

Los esquemas de hiperfraccionamiento (más de una aplicación diaria de radiación) son necesarios cuando dosis totales altas son requeridas para el control del tumor primario, acercándose peligrosamente a las dosis de tolerancia en los tejidos normales circundantes (Ej.: lesiones epidermoides de cabeza y cuello). En este tipo de esquemas, se pueden administrar 2 aplicaciones diarias de radiación con una separación de 6 o más horas, para permitir la reparación en los tejidos normales.

Otros fraccionamientos utilizados en el tratamiento paliativo de algunas enfermedades se denominan hipofraccionamientos; se otorgan fracciones más altas en menos cantidad de días, por ejemplo, en el caso de metástasis de SNC se indican 300 cGy/día en una fracción durante 10 días de tratamiento. Este esquema responde a la necesidad de mejorar los síntomas con rapidez, y reducir los días totales de asistencia del paciente dado el deterioro de su estado general. En la actualidad, estos esquemas se están utilizando en el tratamiento primario del cáncer de mama y de próstata, mostrando resultados idénticos a los realizados con fraccionamientos convencionales. Las técnicas de Radiocirugía Cerebral y Corporal (SRS/SBRT según

sus siglas en inglés respectivamente) entregan su tratamiento mediante esquemas hipofraccionados, entre 1 a 5 sesiones de acuerdo a la localización tumoral y la relación con estructuras vecinas u órganos a riesgo.

Distribución Física de Dosis

Como hemos comentado, con ayuda de los sistemas de colimación de los equipos de tratamiento es posible definir haces de radiación de dimensiones precisas, ajustadas al volumen de la lesión y área de extensión subclínica de la enfermedad. El depósito de energía resultante se evidenciará solo en la zona de tejido expuesta al pasaje del haz de radiaciones.

La distribución espacial de la dosis es un método fundamental en la optimización del tratamiento radiante que se emplea desde los comienzos de la especialidad. En los últimos años se han producido importantes mejoras técnicas (en los equipos, en los métodos de obtención de imágenes y en los sistemas de planificación) que han posibilitado la optimización en la distribución de dosis en niveles nunca antes alcanzados. Describiremos más adelante, las técnicas de Radioterapia Standard, Tridimensional Conformada y de Intensidad Modulada.

Selección adecuada del volumen de Tratamiento

Los objetivos del tratamiento radiante mediante la selección del adecuado volumen de la enfermedad son los siguientes:

- Llevar una dosis adecuada y lo más homogénea posible al volumen tumoral, con la finalidad de conseguir el mayor daño a las células tumorales (**TCP= Tumor Control Probability**)
- Preservar los tejidos sanos y así evitar la irradiación al mayor volumen posible de tejidos sanos (**NTCP=Normal Tissue Control Probability**)
- Garantizar un mínimo de exposición al personal médico y paramédico que es expuesto a las radiaciones durante su trabajo, así como también al público en general.

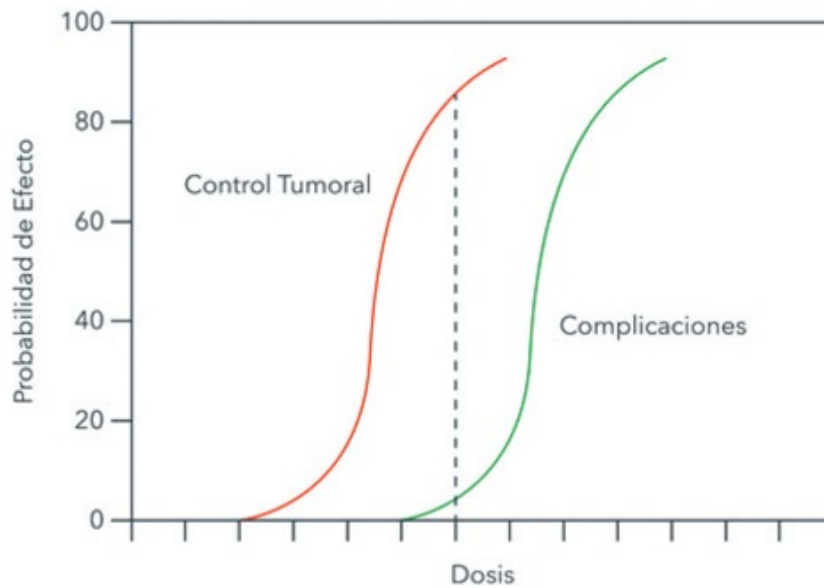
Índice o ventana terapéutica

La respuesta a la injuria causada por la radiación es diferente para los distintos tejidos. En general las células tumorales se comportan como tejidos de crecimiento rápido a diferencia de la mayoría de los tejidos normales que son de crecimiento lento. Esto genera curvas de respuesta a la radiación, probabilidad de control tumoral y probabilidad de complicación del tejido normal, que mientras más lejos se posicionen mayor es la probabilidad de control tumoral y menor la posibilidad de daño del tejido normal (Figura 8). Si las curvas se aproximan o cruzan, el daño al tejido normal es similar al de las células tumorales. La ubicación de las curvas depende del tipo celular tumoral y del tejido sano adyacente.

La dosis total de un tratamiento y el número de fracciones en que se divide su aplicación son factores fundamentales del efecto radioterapéutico. La muerte celular causada por radiación, tiene una relación que no es lineal con el tamaño de la fracción. A una misma dosis total de radiación, la radiación aplicada en pocas fracciones, dosis/fracción grande, produce mayor muerte celular que si es entregada en muchas fracciones, dosis/fracción pequeña. Por otra parte,

la respuesta al tamaño de la dosis/fracción es diferente para el tejido tumoral que se divide rápidamente que para el tejido sano que se divide lentamente. La dosis/fracción pequeña protege más al tejido sano que al tumoral, aumentando la ventana terapéutica, mayor muerte celular tumoral y protección del tejido sano. *Esta es la base del fraccionamiento utilizado en la clínica, donde se utilizan muchas fracciones pequeñas entregadas diariamente a lo largo de semanas, hasta alcanzar la dosis total.* La evaluación de la dosis total sin considerar la dosis/fracción no tiene sentido y para poder comparar los diferentes fraccionamientos se ha diseñado el concepto de *dosis biológica equivalente*.

Figura 9.10



Nota. Probabilidades de control tumoral (derecha) y de complicaciones en el tejido sano (izquierda).

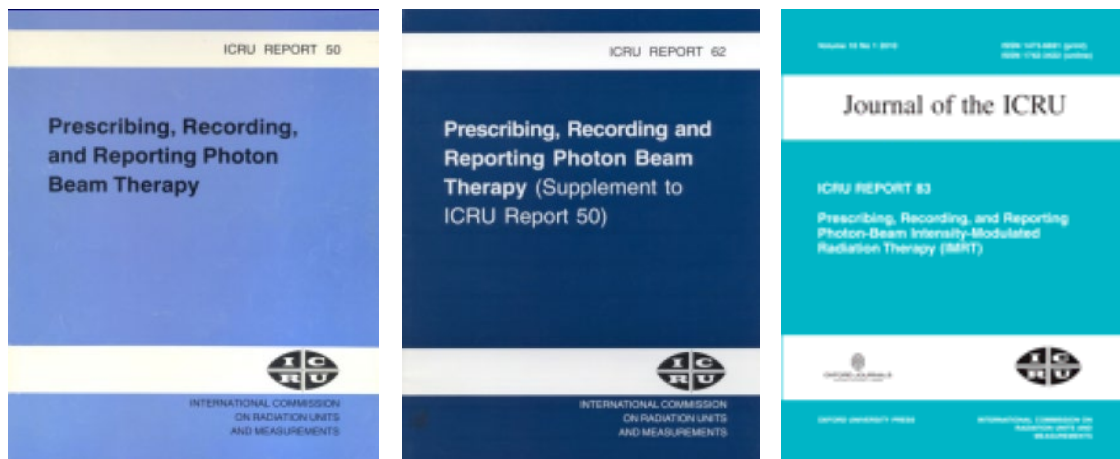
Para lograr lo expuesto, hay una serie de pasos a seguir para evitar errores y lograr los objetivos deseados como se muestra en la Figura 9.11.

Figura 9.11. Pasos para realizar una correcta radioterapia.



La realización de todas estas etapas están basadas y controladas en reportes elaborados por la International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU), elaboradas desde el año 1993 (ICRU 50), 1999 (ICRU 62) y 2010 (ICRU 83, destinado a Intensidad Modulada).

Figura 9.12



Nota. Fuente: Ediciones ICRU.

En estas publicaciones se definen conceptos que permiten la delineación de volúmenes para la correcta irradiación del paciente y la posterior elaboración del Histograma Dosis-Volumen (DVH) con el objeto de resumir todos estos criterios de información y evaluar la distribución de la dosis.

- **Gross Tumor Volume (GTV) o Volumen tumoral blanco**

Es la extensión y localización expresa, palpable o visible/demostrable del tumor maligno.

- **Clinical Target Volume (CTV) o Volumen tumoral Clínico**

Volumen de tejido que contiene GTV y/o enfermedad microscópica subclínica maligna, que debe ser eliminada. Este volumen debe ser tratado adecuadamente para alcanzar el objetivo del tratamiento: cura o paliación.

- **Planning target Volumen (PTV) o Volumen de Planificación Blanco**

Utilizado para seleccionar los tamaños y configuraciones apropiados de los haces, teniendo en cuenta los efectos de todas las posibles variaciones geométricas e imprecisiones de modo que se asegure que la dosis prescrita es realmente absorbida en el CTV.

- **Internal Margin(IM) o Márgen Interno**

El movimiento se produce por cambios de posición a nivel del CTV día a día y se asocia principalmente con los órganos que forman parte o están cercano al sistema digestivo o respiratorio.

- **Set-up Margin (SM)**

Margen que debe ser agregado para incluir incertezas respecto de posicionamiento y alineamiento del paciente durante planificación del paciente y entre fracciones durante todo el tratamiento.

- **Organs at Risk(OR) u Órganos a Riesgo**

Son Tejidos normales cuya sensibilidad a la radiación puede influenciar significativamente en la planificación del tratamiento y/o prescripción de la dosis.

Para tener en cuenta el movimiento de órganos internos y las incertidumbres de configuración, el ICRU report N° 62 introduce el planning *organ at risk volume* (PRV), o sea un margen alrededor del OR.

Técnica de Radioterapia Standard o 2D

Esta técnica se ha empleado ampliamente en el tratamiento radiante y ha contribuido a la curación de muchísimos pacientes. En esta modalidad se emplean medios radiográficos para el relevamiento anatómico del paciente y el diseño y verificación de los campos requeridos. En general, para su aplicación suelen emplearse pares de campos anteroposteriores (AP) y posteroanteriores (PA) sobre los cuales se emplean protecciones personalizadas para bloquear las zonas que no requieren irradiación. Se comienza posicionando al paciente según la zona a irradiar y definiendo en el simulador (equipo radioscópico con geometría y dimensiones idénticas al equipo de tratamiento) un campo rectangular que contenga a todas las regiones a tratar. A partir de este campo se obtiene una placa radiográfica a la distancia de tratamiento y en la misma posición de incidencia definitiva del plano. Sobre esta placa (de la cual conocemos su coeficiente de magnificación en referencia al tamaño real del paciente) se diseñan las protecciones para cubrir las zonas que no requieren irradiación (Ej.: pulmones, tráquea, cabezas humerales).

Vale mencionar que la precisión al definir la zona afectada es baja, debiéndose asumir márgenes de seguridad más amplios de los que se pueden emplear con técnicas más precisas, para tener certeza de abarcar completamente la lesión. Sobre este esquema se construyen las protecciones personalizadas tanto para el campo AP como el PA y luego de fijadas en una bandeja con el nombre del paciente se procede a verificarlas en el equipo de tratamiento o en el simulador. Una vez aprobadas, puede comenzarse la radioterapia. En general, la distribución de dosis que surge de este tipo de plan es homogénea en el sentido anteroposterior, pero debido a la irregularidad de diámetros del cuerpo humano puede presentar una tendencia a depositar dosis más altas en diferentes localizaciones. El cálculo de dosis se efectúa en unos pocos puntos representativos de los distintos diámetros del paciente a lo largo del campo.

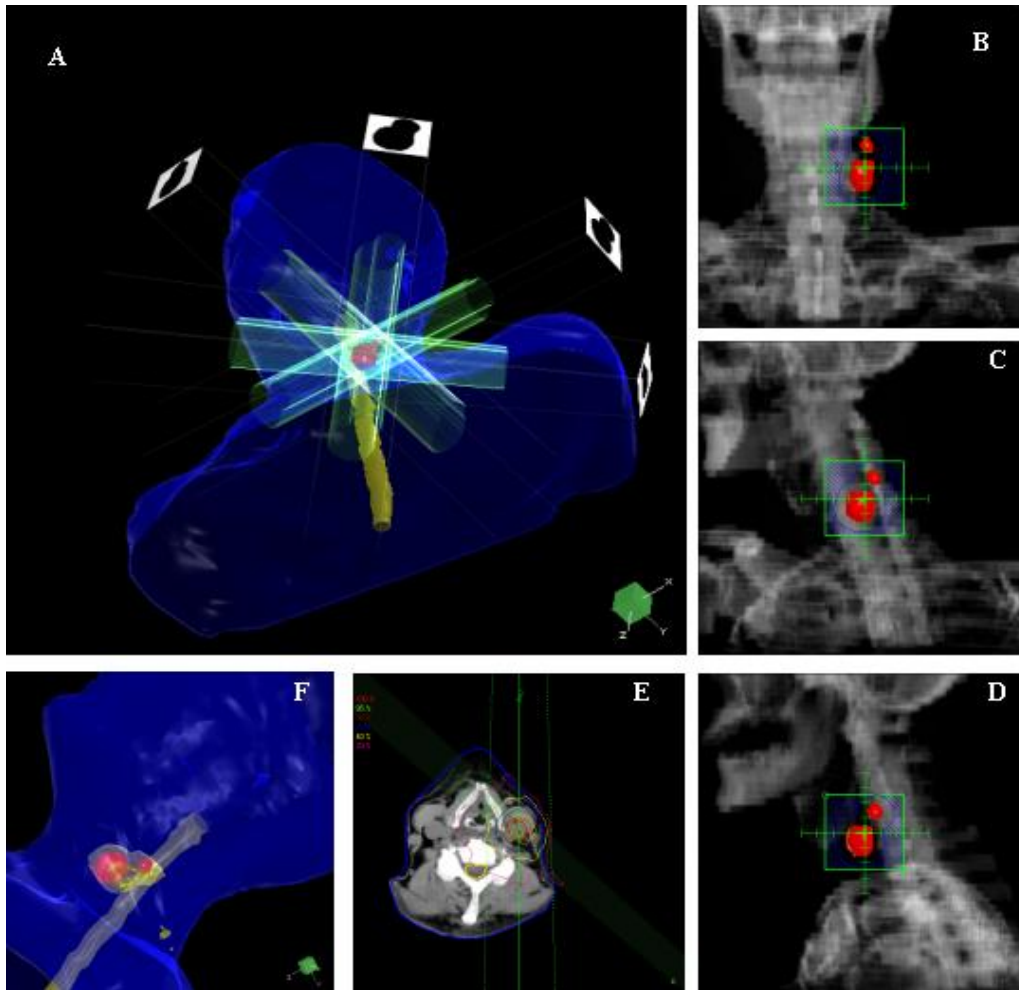
Radioterapia Tridimensional Conformada

Las limitaciones de la técnica standard que hemos mencionado en lo referente a la definición de los volúmenes de tratamiento, de los órganos a riesgo y el conocimiento en la distribución precisa de la dosis pudieron ser superadas solo a partir del acceso a estudios de imágenes de mayor resolución (Tomografía Computada) y de computadoras que fueran capaces de procesar rápida y simultáneamente los datos requeridos.

El conjunto de procesador y software necesario para efectuar esta tarea es conocido como **Sistema de Planificación de Tratamiento**. La técnica tridimensional conformada surge en la década del `80 y consta de un software en el cual pueden incorporarse los datos digitales de los múltiples cortes tomográficos del área de estudio, pudiendo definir el oncólogo radio-terapeuta las diversas regiones de interés (tumor y órganos de riesgo). Una vez definidos los volúmenes, se trabajara en la computadora con una representación virtual del paciente y del equipo de tratamiento, de manera tal que pueda diseñarse una combinación de campos que abarque satisfactoriamente la zona de interés sin excederse en la incorporación de tejidos sanos. En cada ángulo de incidencia de campo puede visualizarse la silueta del tumor, de manera de poder diseñar una protección personalizada. De la combinación de múltiples incidencias se podrá calcular la dosis combinada y eventualmente corregir incidencia, protecciones y peso relativo de dosis por cada campo. Podemos diseñar varios planes competitivos que serán comparados con información específica de distribución de dosis tanto en tumor, como en órganos de riesgo. Sobre esta base, se podrá elegir el plan más conveniente para cada paciente considerando su estadio, antecedentes clínicos de otras patologías y riesgo de toxicidad específico (Figura 9.13).

Una vez elegido el plan, se confeccionaran las protecciones plomadas personalizadas o mediante el sistema de multiláminas (MLC) para cada incidencia, se verificara su localización y confección y se podrá dar comienzo al tratamiento. Esta técnica ha representado de por sí una mejora muy significativa en la calidad de tratamientos y ha sido perfeccionada aún más con la incorporación de otros métodos de imágenes que detectan la presencia de tejido metabólicamente activo a pesar de una falta de deformidad anatómica (PET de planificación). Debido al aumento del control tumoral con estas técnicas, los pacientes se benefician de sobrevividas prolongadas, pero es crítico el problema de la radioprotección para evitar efectos tóxicos determinísticos (Ej.: cardiotoxicidad) y aún más, efectos estocásticos (segundos tumores) que se ha demostrado pueden ser reducidos con una adecuada selección de volumen de tratamiento. Podemos decir que en la actualidad la técnica tridimensional conformada forma parte del standard de tratamiento de la patología oncológica.

Figura 9.13. Sistema de Planificación 3D.



Nota. A: Confluencia de 4 campos de tratamiento sobre un grupo de ganglios linfáticos latero-cervicales izquierdos. Para cada incidencia se puede observar una plantilla que representa la superficie de campo que debe ser bloqueada para reducir la irradiación de tejidos sanos periféricos (se aprecian mejor en las imágenes B, C y D correspondientes a las incidencias anteroposterior, oblicua anterior izquierda y lateral izquierda). En estas últimas tres la imagen se proyecta sobre la referencia del esqueleto óseo, importante para el control de calidad de posicionamiento de cada campo sobre el paciente. E: corte axial donde se observa la curva isodosica resultante de la combinación de los campos mencionados. F: visualización en perspectiva del volumen blanco (en rojo) perfectamente englobado por la isodosica del 95% de la dosis prescrita (en amarillo). Sistema de planificación Win PLT (Nuclemed, Argentina).

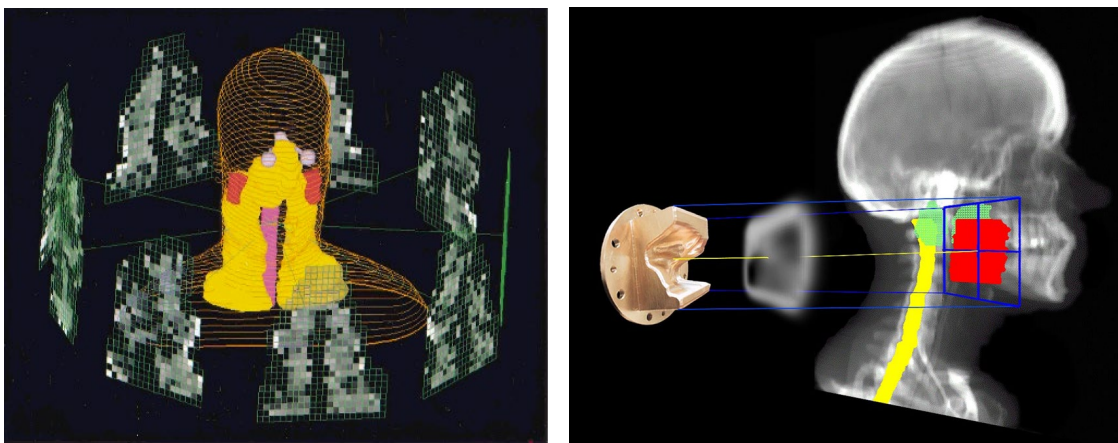
Radioterapia de Intensidad Modulada

Esta técnica radiante representa una mejora en la capacidad de definir curvas de dosis volumétricas ajustadas a blancos determinados, sobre todo, ante la presencia de tumores que presenten concavidades en las cuales se alojan órganos de riesgo (Ej.: lesión expansiva que engloba medula espinal). Se trata en primera instancia de una técnica de planificación tridimensional de dosis, en la cual cada campo de incidencia de un determinado plan de tratamiento, es analizado en un gran número de subsegmentos sobre los cuales puede estimarse en forma in-

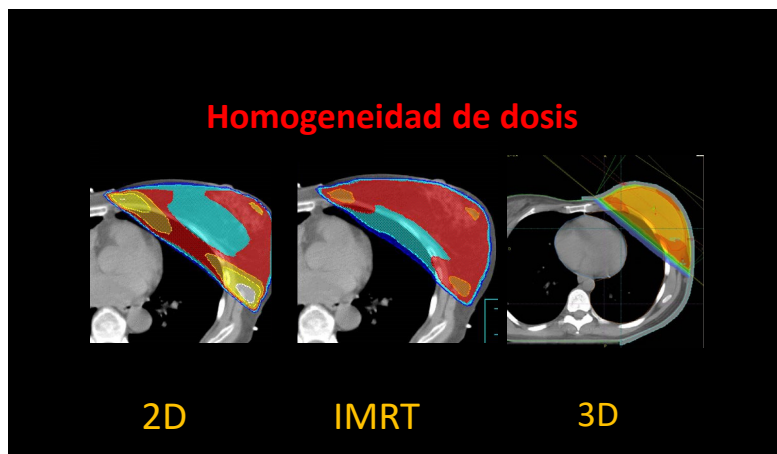
dependiente la intensidad más adecuada de radiación a emplear para que la combinación permita una distribución de dosis que no supere las restricciones definidas por el radioterapeuta. Estos complejos cálculos son efectuados por un algoritmo comúnmente conocido como “de planificación inversa”, ya que a partir de los objetivos planteados por el oncólogo radioterapeuta (en lo referente a dosis mínima y máxima en un volumen tumoral determinado u órganos de riesgo) y una serie de incidencias definidas en primera instancia se calculará la fluencia necesaria en cada subsegmento para cumplir los objetivos.

Para producir en el equipo de tratamiento esta variación de fluencias en subsectores de cada campo de incidencia, pueden emplearse dos métodos. El primero requiere de compensadores construidos en algún metal de alta capacidad de atenuación del haz que tendrán áreas de mayor o menor espesor según el nivel de atenuación requerido y que se fijan al gantry del equipo para cada incidencia. El segundo requiere el uso de colimadores de hojas múltiples, que varían su posición durante la irradiación o en sucesivas emisiones de radiación en varias configuraciones programadas para cada incidencia. Una vez elegido el plan más conveniente, se procederá a construir el compensador personalizado para cada incidencia o transferir la secuencia de apertura y cierre de las hojas del colimador al equipo de tratamiento si contamos con colimador múltiple.

Figura 9.14. Sistema de Planificación de Intensidad Modulada.



Si bien en los órganos considerados para planificar el tratamiento las distribuciones de dosis resultan más ajustadas, se suele requerir de un mayor número de incidencias para lograrlo, por lo cual las dosis integrales (valor que considera dosis y volumen corporal total expuesto a la radiación) en algunos casos pueden ser mayores en intensidad modulada que para la técnica tridimensional conformada. La necesidad de emplear esta técnica debe ser evaluada en forma individual para cada caso.

Figura 9.15. Comparación entre las diferentes técnicas.

Radioterapia Guiada por Imágenes (IGRT)

La radioterapia guiada por imagen (IGRT) es un concepto que engloba la manera más moderna de administrar el tratamiento radiante. El objetivo es maximizar la dosis depositada en el volumen a tratar (*target*), minimizando la dosis en órganos sanos. Esto no sería posible sin el continuo desarrollo tecnológico y de *software*, que permitan registrar imágenes deformables, re-planificar nuevos tratamientos, imagen en tiempo real y cálculo de dosis acumulada.

En el proceso de planificación y administración del tratamiento radioterápico, existen incertidumbres sistemáticas y aleatorias. Las primeras son debidas a errores en la planificación y simulación (diferente posicionamiento del paciente durante la adquisición de las imágenes para planificar el tratamiento y durante el posicionamiento del tratamiento). Estos errores sistemáticos se repetirán durante todo el tratamiento. Los errores aleatorios aparecen por las desviaciones diarias al colocar al paciente, por cambios anatómicos en la morfología del tumor o por el movimiento interno que presentan algunos órganos (Ej. el pulmón con los movimientos respiratorios). Los errores aleatorios se producen en el momento y durante la administración del tratamiento. Como se mencionó al hablar sobre el ICRU, estas incertidumbres son las responsables de la existencia del PTV o volumen de tratamiento.

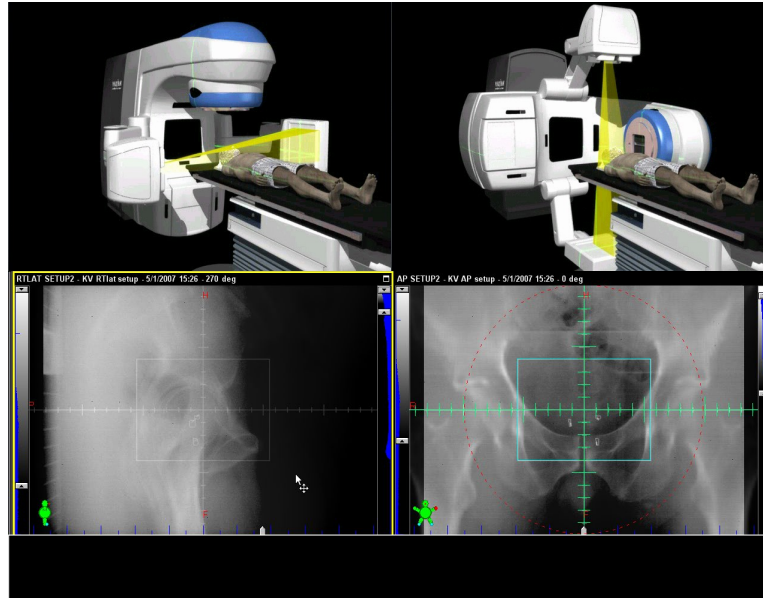
Sistemas de imagen guiada

Debido a los cambios anatómicos que experimenta el *target*, es necesario obtener imágenes que aseguren la precisión del tratamiento. Estas imágenes pueden ser:

- **Imágenes planas en 2D:** *electronic portal imaging devices* de megavoltaje o kilovoltaje (Kv) para visualizar marcadores radioopacos.
- **Imágenes volumétricas:** ecografía, tomografía computarizada.
- **Imágenes 4D** (obtener información anatómica en referencia a los cambios producidos por respiración) en tiempo real, en la sala de tratamiento, es el fundamento de la IGRT.

Al obtener la imagen mediante lo descripto, hay que compararla con la de referencia (suele ser una imagen plana radiográfica de Kv, que equivale a la reconstrucción digital radiográfica (RDR), generada en el planificador a partir de la TAC de simulación. Estas imágenes de referencia son las que se utilizan para comparar y verificar el posicionamiento del paciente o del *target* en el momento de administrar el tratamiento radioterápico.

Figura 9.16. Sistema Radioterapia Guiada por Imágenes.



Toxicidad

Resulta claro a esta altura del capítulo, que la radiación es capaz de producir efectos no deseados en los tejidos normales expuestos. Tratándose de una modalidad terapéutica locoregional, debemos enfatizar que los efectos secundarios surgirán exclusivamente en los tejidos que han recibido alguna dosis de radiación como consecuencia de su tratamiento. Todos los esfuerzos realizados con las nuevas técnicas tienen a disminuir dichos efectos. Los efectos secundarios de la radiación pueden analizarse desde varias perspectivas. En primera instancia, según su momento de aparición pueden clasificarse en:

- **Agudos:** se presentan durante el periodo de irradiación o hasta el segundo o tercer mes del inicio del tratamiento. Suelen corresponderse con la muerte celular inducida en los tejidos normales de reacción aguda (los de tiempo de recambio mas corto: mucosas, piel, medula ósea, esófago y mucosa gastrointestinal)
- **Tardíos:** aparecen después de un año del tratamiento. Suelen corresponderse con depleción de células de reposición de los distintos tejidos o con daño a la microvasculatura de los mismos. Se admiten como los más relevantes, ya que pueden ser de difícil tratamiento y reducir la calidad de vida de los pacientes en forma

permanente. Son considerados particularmente a la hora de definir las restricciones de dosis en los órganos en riesgo, al momento de planificar un tratamiento particular.

Existen tablas que ayudan a reportar el nivel de las toxicidades agudas y tardías (Toxicidad Aguda de OMS / Toxicidad Tardía de RTOG) y sirven de referencia a la hora de compartir con la comunidad científica internacional, los resultados obtenidos por un determinado esquema de tratamiento radiante. Resulta importante mencionar que las comorbilidades, antecedentes quirúrgicos y eventos registrados en la región de interés antes y después del tratamiento radiante pueden producir un efecto acumulativo que va en detrimento de la tolerancia al tratamiento de un paciente en particular.

Considerando la relación entre las dosis empleadas en un tratamiento radiante y la magnitud de toxicidad inducida, los efectos generados pueden dividirse en efectos determinísticos y efectos estocásticos:

- Los **efectos determinísticos** son los que tienen una intensidad que se correlaciona con la dosis de radiación recibida, es decir, la magnitud del efecto tóxico es mayor cuanto mayor la dosis administrada durante el tratamiento. Tienen un umbral de dosis por debajo del cual su ocurrencia es extremadamente improbable (este umbral es característico de cada órgano irradiado para cada efecto en particular). Suele corresponderse con la magnitud de muerte celular producido en el tejido normal en cuestión, alterando la cinética tisular, por ejemplo impactando en el número de células basales de un epitelio, que más tarde serán responsables de la repoblación del mismo. Es posible que estos efectos se manifiesten tanto en la etapa aguda como tardía.
- Los **efectos estocásticos** son los que se relacionan con mutaciones génicas derivadas de daños subletales mal reparados, que surgen del tratamiento. Su probabilidad de ocurrencia es proporcional a la dosis administrada y al volumen de tejido irradiado, pero no tienen dosis umbral y su gravedad no es proporcional a la dosis recibida. El ejemplo característico es la ocurrencia de un segundo tumor inducido por una irradiación previa; claramente la gravedad de esta segunda neoplasia es independiente de la dosis que se hubiera administrado en su momento.

La experiencia clínica nos permite predecir el riesgo aproximado de inducir determinado efecto tóxico si conocemos la dosis acumulada y la distribución de la misma dentro del volumen de un órgano en particular. En la práctica se trabaja en base a guías de referencia ordenadas por órgano, basadas en efectos tardíos precisos y relevantes (Ej. Fibrosis cutánea, insuficiencia hepática, insuficiencia renal etc.), con dosis máximas de tolerancia y en algunos casos referencias a un determinado volumen de órgano (100%, 66%, 33%). Estas tablas suelen marcar los límites máximos de dosis en niveles que puede producir complicaciones en un 5% de los pacientes, a 5 años de culminado el tratamiento, lo cual se considera aceptable tratándose del control de una enfermedad oncológica. Desde el año 2010, nuevos conceptos y valores de restricciones de dosis se han elaborado a las desarrolladas por Emami. Las tablas QUANTEC son hoy las más utilizadas.

Efectos adversos de la radiación

Como mencionamos, los efectos adversos de la radiación pueden ocurrir durante el tratamiento o inmediatamente después, los efectos agudos, o en el caso de efectos tardíos aparecer meses o años después de finalizado el tratamiento. Los efectos agudos en general desaparecen sin dejar secuelas en cambio los efectos adversos tardíos son permanentes. Los efectos adversos en los órganos sanos dependen del órgano y el tamaño de volumen irradiado, de la dosis total, la dosis/fracción diaria y el tiempo transcurrido entre las fracciones. Los efectos adversos de la radioterapia ocurren solo en la zona del cuerpo que ha recibido irradiación.

Para facilitar el análisis del daño producido por la radiación, los órganos han sido agrupados en órganos con estructuras paralelas, órganos en línea y órganos mixtos. Los órganos en paralelo tienen múltiples unidades funcionales iguales y si una parte es dañada el resto, mediante la reserva funcional, es capaz de mantener la función del órgano. Los efectos tardíos de los órganos en paralelo son dependientes de la proporción del volumen del órgano irradiado y son ejemplo de éstos el hígado y el riñón. En cambio en los órganos en serie cada unidad funcional es crítica para su función. Los efectos tardíos son dependientes de la dosis máxima en cada segmento, la que sí es sobrepasada puede interrumpir su función, son ejemplo de éstos la médula espinal y el intestino. Los órganos mixtos tienen ambos componentes y ejemplo de éstos es el cerebro. La tolerancia a la radiación es propia para cada persona dependiente de los mecanismos de reparación del daño. Los radioterapeutas han estudiado y diseñado tablas que permiten estimar los riesgos de daño por radiación para los diferentes órganos, considerando efectos promedio para una población.

El tratamiento con radiación debe balancear el control del cáncer con el daño a los tejidos sanos, como se mencionó con anterioridad.

Efectos adversos más comunes

Piel: El uso de aceleradores lineales de alta energía ha disminuido la irradiación de la piel, evitando los efectos adversos. En los casos en que la irradiación debe ser superficial, los efectos agudos más frecuentes son el eritema, que evoluciona a hiperpigmentación, en los casos que la dosis recibida es más alta, puede originar descamación seca y luego ulceración. La piel se regenera entre una a cuatro semanas realizando curaciones con suero fisiológico y cubriéndola con crema humectante.

Los efectos adversos tardíos en la piel son la fibrosis, acartonamiento de la piel, sequedad, hiperpigmentación y telangectasias.

Abdomen y pelvis: Los órganos más vulnerables a la radiación en la cavidad abdominal son el intestino y el colon. En la fase aguda la manifestación inicial es el aumento de la frecuencia y la disminución de la consistencia de las deposiciones, que progresa hasta un cuadro de diarrea.

La irradiación del estómago produce náuseas que pueden acompañarse de vómitos. Los síntomas se inician una hora después de recibida la radiación en el estómago y debe prevenirse con profilaxis antiemética previa.

Los efectos tardíos en el tubo digestivo pueden ser diarrea crónica, dolor abdominal, disminución de peso, sangrado y obstrucción intestinal. La introducción de mejores técnicas de radiación ha permitido que las complicaciones tardías se presenten actualmente con baja frecuencia.

Tórax: La irradiación pulmonar (dependiendo de la dosis y volumen) puede producir neumonitis como efecto adverso agudo. Esta se manifiesta por tos seca, fiebre, dolor torácico y dificultad respiratoria, mediante una radiografía de tórax se muestra una neumonitis en la zona irradiada, sin que exista otra causa que la explique. El tratamiento es con corticoides en dosis altas y que deben disminuirse muy gradualmente en meses.

La fibrosis pulmonar es el efecto tardío de la irradiación y produce alteración en las pruebas funcionales del pulmón. La irradiación del esófago produce en forma aguda disfagia y sensación de obstrucción al ingerir alimentos. Durante el tratamiento es necesario que la alimentación sea blanda, con trozos pequeños o papilla de forma de no traumatizar la mucosa ya inflamada por la radiación. Es necesario agregar analgésicos para permitir la deglución.

Los efectos adversos tardíos del esófago son alteración de la motilidad y la disminución del calibre esofágico por fibrosis, que en ocasiones puede llegar hasta la obstrucción del esófago. En estos casos el uso de dilataciones endoscópicas periódicas puede ser necesario para recuperar el lumen esofágico.

La irradiación del corazón se ha minimizado, utilizando técnicas avanzadas de radioterapia torácica con el fin de evitar los efectos tardíos como la pericarditis y especialmente la enfermedad coronaria que ocurre 10 a 15 años después del tratamiento y se suma a los factores de riesgo habituales de la enfermedad tabaquismo, hipercolesterolemia, historia familiar, obesidad e hipertensión.

Cabeza y cuello: En el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello se irradian diferentes órganos sanos adyacentes al tumor y su drenaje linfático, los que tienen diferentes sensibilidades a la radiación. Los efectos adversos agudos más frecuentes son la mucositis, inflamación y ulceración de la mucosa con posible sobreinfección, que genera dolor que dificulta la alimentación con baja de peso. Al mismo tiempo ocurre pérdida del sabor de los alimentos, disminución de la saliva, primero el componente acuoso quedando una secreción adherente, difícil de eliminar que causa náuseas. Además se puede agregar dificultad para tragar por inflamación del músculo constrictor de la faringe, disfonía por irradiación de la laringe y cambios en la piel por ser el drenaje linfático superficial.

Estos síntomas aumentan en forma importante si se trata con radioquimioterapia concomitante. El uso de radioterapia por modulación de intensidad, IMRT, permite una mejor protección de los órganos a riesgo disminuyendo los efectos de la radiación especialmente los tardíos.

Los efectos adversos tardíos son la sequedad bucal que condiciona una pérdida de la protección dental por la saliva y daño severo a la dentadura, si no es cuidada y fluorada regularmente. La sensibilidad de la mucosa y el sabor pueden mantenerse alterados, la fibrosis del músculo

constrictor de la faringe puede alterar la deglución, en el cuello se produce fibrosis y linfedema que puede requerir drenaje linfático.

Sistema nervioso: La irradiación del cerebro puede generar aumento de la presión intracraneana por edema cerebral, el que habitualmente ya está presente causado por la lesión tumoral. El edema cerebral produce cefalea y si es profuso náuseas, vómitos y se pueden acompañar de somnolencia, déficits neurocognitivos, motores y sensoriales. Se trata con corticoesteroides que se dosifican de acuerdo a la intensidad de los síntomas.

Los efectos adversos tardíos de la irradiación a todo el cerebro son las alteraciones neurocognitivas, que son más intensas en los niños, produciendo retardo mental. La irradiación focal a dosis altas, puede producir necrosis con proliferación vascular anormal que se manifiesta por edema cerebral intenso y se trata con corticoesteroides, antiangiogénicos y eventualmente cirugía que remueve el foco de necrosis.

Los efectos adversos tardíos de la irradiación de la médula espinal pueden ser transitorios o irreversibles y dependen de la dosis total, tamaño de dosis/fracción y largo de la médula irradiada. La alteración más frecuente es la mielopatía transitoria, *signo de Lhermitte*, que ocurre 2 a 4 meses después del tratamiento y que consiste en la sensación de un shock eléctrico a lo largo de la columna hasta las piernas y que puede ser desencadenado por la flexión de la cabeza. Las molestias pasan espontáneamente y se piensa se deben a un proceso de desmielinización. La lesión permanente de la médula es muy rara y las molestias se inician 9 a 15 meses después del tratamiento con aparición de parestesias y alteraciones sensoriales que progresan hasta producir parálisis distal al sitio de la lesión.

Conclusiones

La radioterapia, así como las demás especialidades, evoluciona permanentemente. Como hemos podido expresar a lo largo de este capítulo, se nutre del aporte de varias disciplinas: la oncología molecular, la radiobiología, la física, la ingeniería de diseño de equipos de imágenes y tratamiento, la informática etc.

En general, podríamos decir que se tiende a una mayor precisión en la capacidad de entrega de dosis de radiación, considerando las variaciones dinámicas de los volúmenes corporales a lo largo del tiempo total de tratamiento, la movilidad del paciente durante una fracción y su variación de posicionamiento entre una y otra aplicación. Si sumamos la posibilidad de registrar en imágenes las variaciones en el estatus biológico de distintas porciones de tejido dentro y fuera del tumor (PET/CT con diversos compuestos, espectroscopia por resonancia), es posible definir subregiones del interior de la masa tumoral que requieran mayor o menor dosis de radiación para un adecuado tratamiento. Potencialmente mejoran los resultados clínicos de control con reducción a la mínima expresión de la toxicidad en los tejidos sanos circundantes.

En definitiva, el desarrollo pleno de estos aspectos técnicos y el mayor conocimiento biológico de la enfermedad obtenido en los trabajos de investigación, resultará fundamental para elevar el aporte de la especialidad al bienestar de nuestros pacientes.

Referencias

- Figura 9.1. Fische A. (2017). Dormitorio en Arlés. <https://historia-arte.com/obras/dormitorio-en-arles>.
- Battista JJ, Rider WD, Van Dyk J. (1980). Computed tomography for radiotherapy planning. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 6: 99-108.
- Caldwell CB, Mah K, Skinner M, Danjoux CE. (2003). Can PET provide the 3D extent of tumor motion for individualized internal target volumes? A phantom study of the limitations of CT and the promise of PET. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 55(5): 1381-93.
- Campisi J, d'Adda di Fagagna F. (2007). Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 8: 729-40.
- Chao KS, Bosch WR, Mutic S, Lewis JS, Dehdashti F, Mintun MA, Dempsey JF, Perez CA, Purdy JA, Welch MJ. (2001). A novel approach to overcome hypoxic tumor resistance: Cu-ATSM-guided intensity-modulated radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 49(4): 1171-82.
- Chao KS, Ozyigit G, Thorsdad WL. (2003). Toxicity profile of intensity-modulated radiation therapy for head and neck carcinoma and potential role of amifostine. *Semin Oncol.* 30(6 Suppl 18):101-8.
- Chapman JD, Bradley JD, Eary JF, Haubner R, Larson SM, Michalski JM, Okunieff PG, Strauss HW, Ung YC, Welch MJ. (2003). Molecular (functional) imaging for radiotherapy applications: an RTOG symposium. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 55(2): 294-301.
- Chapman JD, Gillespie CJ. (1981). Radiation-induced events and their time-scale in mammalian cells. *Adv Radiat Biol.* 9: 143-98.
- Chu K, Teele N, Dewey MW, Albright N, Dewey WC. (2004). Computerized video time lapse study of cell cycle delay and arrest, mitotic catastrophe, apoptosis and clonogenic survival in irradiated 14-3-3sigma and CDKN1A (p21) knockout cell lines. *Radiat Res.* 162: 270-86.
- Denekamp, J. (1989). Physiological hypoxia and its influence on radiotherapy. United States: Elsevier Science Pub Co, Inc.
- Drzymala RE, Holman MD, Yan D, Harms WB, Jain NL, Kahn MG, Emami B, Purdy JA. (1994). Integrated software tools for the evaluation of radiotherapy treatment plans. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 30(4): 909-19.
- Emami B, Lyman J, Brown A, Coia L, Goitein M, Munzenrider JE, Shank B, Solin LJ, Wesson M. (1991). Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 21(1): 109-22.
- Garcia-Barros M, Paris F, Cordon-Cardo C, Lyden D, Rafii S, Haimovitz-Friedman A, Fuks Z, Kolesnick R. (2003). Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis. *Science.* 300(5622): 1155-9.

- Goitein M, Abrams M. (1983). Multi-dimensional treatment planning: I. Delineation of anatomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*; 9: 777-787.
- Halperin EC, Perez CA, Brady LW. (2008). *Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology*, 5th Edition Lippincott Williams & Wilkins.
- Harper JW, Elledge SJ. (2007). The DNA damage response: ten years after. *Mol Cell*. 28: 739-45.
- Hobday P, Hodson NJ, Husband J, Parker RP, Macdonald JS. (1979). Computed tomography applied to radiotherapy treatment planning: techniques and results. *Radiology*. 133(2): 477-82.
- Horiot JC, Bontemps P, van den Bogaert W, Le Fur R, van den Weijngaert D, Bolla M, Bernier J, Lusinchi A, Stuschke M, Lopez-Torrecilla J, Begg AC, Pierart M, Collette L. (1997). Accelerated fractionation (AF) compared to conventional fractionation (CF) improves loco-regional control in the radiotherapy of advanced head and neck cancers: results of the EORTC 22851 randomized trial. *Radiother Oncol*. 44(2): 111-21.
- ICRU. (1993). International Commission on Radiation Units and Measurements. Prescribing, recording, and reporting photon beam therapy. Report 50. Bethesda, MD: International Commission on Radiation Units and Measurements.
- ICRU. (1999). International Commission on Radiation Units and Measurements. Prescribing, recording, and reporting photon beam therapy. Report 62 (Supplement to ICRU Report 50). Bethesda, MD: International Commission on Radiation Units and Measurements.
- Intensity Modulated Radiation Therapy Collaborative Working Group. (2001). Intensity modulated radiation therapy: current status and issues of interest. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 51: 880-914.
- Keall PJ. (2004). 4-dimensional computed tomography Imaging and Treatment Planning. *Semin Radiat Oncol*. 14: 81-90.
- Khan FM. (2003). *The physics of radiation therapy*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Marks LB, Yorke ED, Jackson A, Ten Haken RK, Constine LS, Eisbruch A, Bentzen SM, Nam J, Deasy JO. (2010). Use of normal tissue complication probability models in the clinic. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 76(3 Suppl): S10-9.
- Miller D. (1995). A review of proton beam radiation therapy. *Med Phys*. 22: 1943-1954.
- Mothersill C, Seymour CB. (2004). Radiation-induced bystander effects - implications for cancer. *Nat Rev Cancer*. 4: 158-64
- Mould RF. (1993). *A Century of x-rays and radioactivity in medicine*. Bristol: Institute of Physics Publishing.
- Owen JR, Ashton A, Bliss JM, Homewood J, Harper C, Hanson J, Haviland J, Bentzen SM, Yarnold JR. (2006). Effect of radiotherapy fraction size on tumour control in patients with early-stage breast cancer after local tumour excision: long-term results of a randomised trial. *Lancet Oncol*. 7(6): 467-71.
- Small JW, Woloschak G, (Ed.). (2005). *Radiation Toxicity: A Practical Guide. Cancer treatment and research*. Steven Rosen Series Editor.
- Warters RL, Hofer KG. (1977). Radionuclide toxicity in cultured mammalian cells. Elucidation of the primary site for radiation-induced division delay. *Radiat Res*. 69: 348-58.

Todo sale del gran libro de la naturaleza; las obras de los hombres son ya un libro impreso.

Antoni Gaudí



Fuente: <https://historia-arte.com/movimientos/art-nouveau>

Autores

Coordinadoras

Güerci, Alba

Doctorada en Ciencias Naturales por la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata. Licenciada en Ciencias Biológicas por la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata y Docente Universitario Autorizado (UNLP). Profesor Adjunto ordinario de las asignaturas Radiobiología y Dosimetría y Radiobiología Molecular y Celular de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP). Es investigadora independiente del CONICET (IGEVET-CCT La Plata) y responsable del Laboratorio de Radiobiología del Instituto de Terapia Radiante, Red CIO-La Plata. Acredita más de 40 manuscritos científicos con autoría protagónica y más de 200 presentaciones a eventos pertinentes. Cursó una posición posdoctoral en la Universidad Autónoma de Barcelona (Ministerio de Educación y Ciencia, España). En siete oportunidades ha sido distinguida por su labor científica y académica.

Ocolotobiche, Eliana

Doctora en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP). Licenciada en Biotecnología y Biología Molecular por FCE-UNLP. Ayudante Diplomado en las asignaturas Biotecnología de Organismos Superiores y Biología Celular Molecular de FCE-UNLP. Profesional de Apoyo a la Investigación del CONICET (IGEVET-UNLP-CCT La Plata). Autora protagónica de 11 manuscritos científicos y 23 presentaciones a eventos de las áreas de Biología Molecular y Celular y Radiobiología. Recientemente fue premiada por su trabajo en investigación clínica.

Autores

Dubner, Diana

Licenciada en Ciencias Químicas por la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) y Postgraduada en Seguridad Radiológica y Nuclear (OIEA, UBA, ARN). Acredita estadías en centros relevantes como el Institut Universitaire d' Hematologie (Universidad de París, Francia) y el Ins-

titut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (Fontenay-aux-Roses, Francia). Actúa como docente en la carrera de Especialización en Protección Radiológica y Seguridad en Fuentes de Radiación (OIEA, UBA, ARN), el Instituto Dan Beninson (UNSAM-CNEA) y en cursos regulares de las Sociedades Argentinas de Radioprotección y de Terapia Radiante Oncológica (entre otras). En virtud de su vasta y rica experiencia, lograda mediante actividades para la Gerencia de Protección Radiológica de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) y de la Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN), es Asesora Emérita en Protección Radiológica.

Ferraris, Gustavo

Doctorado en Medicina por la Universidad Católica de Córdoba (UCC) y Especialista en Radioterapia, de la Universidad de Buenos Aires, recertificado por la Asociación Médica Argentina y jerarquizado por la Attestation de Formation Spécialisée, Universidad de Paris XII, en Oncologie Option Radiotherapie. Máster en Oncología Molecular, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid. Profesor Titular: cátedra de Radioterapia Oncológica del Posgrado en Oncología Clínica (UCC) y Director de la carrera posgrado de Especialización en Radioterapia Oncológica (UCC). Profesor Regional de la International Agency of Energy Atomic, (San José de Costa Rica, 2014-18). Co-autor de tres capítulos de libros, diez manuscritos científicos y participante de 92 presentaciones en congresos científicos, internacional y nacionales, mayormente en calidad de conferencista, experto o coordinador.

Nicoud, Melisa

Doctora de la Universidad de Buenos Aires (UBA) en el área de Ciencias de la Salud, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB). Licenciada en Física Médica por la Facultad de Ciencias Exactas (FCE) de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Como docente, desempeña el cargo de Ayudante de Primera para la “Tecnicatura en Medicina Nuclear” de la FFyB-UBA en las cátedras de “Radioquímica” y “Dosimetría y Protección Radiológica” y en términos de posgrado, es docente del curso de “Metodología y Aplicación de Radioisótopos”, (FFyB-UBA y aprobado por la ARN). Es becaria posdoctoral del CONICET en el área de Ciencias Médicas e integrante del Laboratorio de “Biología Tumoral e Inflamación” del Instituto de Investigaciones Biomédicas BIOMED (UCA-CONICET), en el cual actúa asimismo como miembro activo del Consejo Directivo y miembro del Comité de Bioética y Seguridad.

Güerci, Alba Mabel

Principios de Radiobiología / Alba Mabel Güerci ; Eliana Evelina Ocolotobiche ; Gustavo Ferraris ; Coordinación general de Alba Mabel Güerci ; Eliana Evelina Ocolotobiche. - 1a ed - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; EDULP, 2024.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga

ISBN 978-950-34-2416-2

1. Radioterapia. I. Ocolotobiche, Eliana Evelina II. Ferraris, Gustavo III. Título.
CDD 530.02

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata

48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina

+54 221 644 7150

edulp.editorial@gmail.com

www.editorial.unlp.edu.ar

EduLP integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2024

ISBN 978-950-34-2416-2

© 2024 - EduLP

e
exactas


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA