

República de Cuba

Hospital Clínico-Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras"

**Evaluación del daño biológico radioinducido mediante
la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios
en situaciones de exposición accidental**

Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Médicas

Autor: María de Lourdes Morera Carrillo

La Habana

2014

República de Cuba

Hospital Clínico-Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras"

**Evaluación del daño biológico radioinducido mediante
la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios
en situaciones de exposición accidental**

Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Médicas

Autor: Maria de Lourdes Morera Carrillo

Tutor: Dr. C. Wilfredo Torres Tobar

La Habana, 2014

AGRADECIMIENTOS

A todos los centros que contribuyeron a mi formación profesional.

A todos los profesores, colegas y amigos que ayudaron a confeccionar este proyecto.

DEDICATORIA

A mis abuelos.

A mis padres, hijos y nieta.

A mis tías, colegas y grandes amigos.

SINTESIS

La determinación de la concentración de ácidos nucleicos es un indicador que aporta datos importantes en la estimación de dosis en situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes. Esta técnica desarrollada por primera vez en Cuba consiste en una determinación espectrofotométrica, rápida, económica y sencilla, fácil de implementar en laboratorios convencionales.

En el síndrome agudo, la relación dosis-efecto se evidenció a las 24 horas posteriores a la irradiación, y este efecto es medible por espacio de 21 días. Los valores de referencia obtenidos en población cubana resultaron de utilidad para el desarrollo de investigaciones del daño biológico radioinducido en situaciones de exposición accidental. . El valor pronóstico de sobrevida al síndrome radiacional, indicador temprano del restablecimiento del compromiso sistémico hematopoyético, radicó en la presencia de un pico abortivo observado entre el décimo o quinceavo días.

La experiencia con los niños de Chernobyl, sugiere que la integridad cuantitativa del indicador pudiera ser un evaluador de la capacidad de respuesta adaptativa en el síndrome crónico, que mostró un comportamiento similar a otros indicadores biológicos novedosos, empleados en la misma muestra.

La metodología descrita fue incluida en los protocolos del Manual de Asistencia a Radioaccidentados de América Latina y del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Antecedentes	1
1.2.	Limitaciones asociadas al estado actual	6
1.3.	Problema de Investigación	7
1.4.	Objetivo General	7
1.4.1.	Objetivos específicos.....	7
1.5.	Hipótesis de la Investigación	8
1.6.	Materiales y Métodos	8
1.7.	Beneficios esperados.....	12
1.8.	Límites del alcance de la investigación	12
2.	DESARROLLO	13
2.1.	Biodosimetría molecular aplicable a situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes.....	13
2.1.1.	Valoración del contexto local, nacional y mundial	13
2.1.2.	Estado actual del conocimiento del problema de investigación.....	15
2.1.3.	Carencia que se quiere llenar con la investigación	47

2.2.	Validación del daño biológico radioinducido aplicable a situaciones de sobrexposición a las radiaciones ionizantes.....	48
2.2.1.	Determinación de los valores de referencia de la concentración de ácidos nucleicos leucocitarios en ratas Wistar .	48
2.2.2.	Dinámica variacional de los ácidos nucleicos leucocitarios posterior a la irradiación.....	56
2.2.3.	Determinación de los rangos de referencia de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica (ANLSP) en la población cubana.....	61
2.2.4.	Conclusiones parciales	65
2.3.	Valor de los ácidos nucleicos leucocitarios en situaciones de exposición accidental	66
2.3.1.	Síndrome agudo. Trasplante de médula	66
2.3.2.	Síndrome crónico. Experiencia con los niños de Chernobyl	80
2.3.3.	Conclusiones parciales	89
3.	CONCLUSIONES	91
4.	RECOMENDACIONES.....	93
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
6	ANEXOS	

1. INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Durante la ocurrencia de accidentes radiológicos es importante determinar lo antes posible la magnitud de las dosis que recibieron las personas afectadas. La dosimetría biológica aporta frecuentemente criterios importantes en la investigación del accidente y consiste en la cuantificación del daño ocasionado por las radiaciones ionizantes sobre las células del propio individuo. Dicho daño se compara con curvas dosis-respuestas de referencia realizadas *in vitro* o *in vivo*, obteniéndose de esta forma criterios importantes en la investigación del accidente¹.

El desarrollo de la dosimetría biológica, se fundamenta en los efectos inducidos por las radiaciones ionizantes en los seres vivos, constituyendo una medida del grado de exposición a las mismas².

Los métodos citogenéticos reflejan exactamente las alteraciones biológicas radioinducidas, pero no cumplen en su totalidad con los requerimientos del dosímetro biológico ideal: simplicidad, precocidad, rapidez, estabilidad, reproducibilidad, relación dosis-respuesta, especificidad, sensibilidad y fiabilidad³.

El desarrollo de la dosimetría biológica tiene gran importancia en la actualidad ya que el riesgo de exposición nuclear⁴ o radiológica sigue vigente, debido a la

posibilidad de fallas en reactores nucleares o accidentes en plantas de energía y al naciente potencial de terrorismo utilizando dispositivos nucleares improvisados (DNI), dispositivos de dispersión radiológica (DDR), o dispositivos de explosión radiológica (DR). La dosimetría citogenética, conocida como “estándar de oro”, tiene su fuerza en su especificidad para radiaciones (IAEA 2001)⁵, pero tiene que cumplimentar requerimientos normativos descritos en:

- ü Manuales que establecen criterios de servicios de laboratorios en dosimetría citogenética” (ISO 2004) La ISO (International Organization for Standardization) editó recientemente la norma 19238:2004 “Criterio de desempeño para los laboratorios que realizan dosimetría biológica mediante técnicas citogenéticas” cuyo objetivo es proveer los criterios de garantía de calidad y control de calidad, evaluación del desempeño y la acreditación de la dosimetría biológica para los laboratorios de servicio de dosimetría citogenética⁶. El laboratorio de dosimetría biológica de la ARN ha participado en la discusión y votación de esta norma.
- ü “Criterios de servicios para accidentes masivos” en cuanto a estándares y además cumplir con la norma (ISO 21243 del 2008)⁷

Los nuevos tipos de exposición radiológica o nuclear (DDI, DDR, DER) crean la necesidad de desarrollar en la dosimetría biológica técnicas de respuestas rápidas, evaluativas y precisas, que identifiquen y clasifiquen daños, dando enfoques acertados en cuanto a tratamientos.

(Martín et al 2007)⁸, propone automatizar el servicio citogenético con seguimientos electrónicos de las muestras para aumentar la eficiencia, la velocidad y el rendimiento. Este proceder reduce al mínimo los errores de transcripción de datos, por lo que sin lugar a dudas su implementación representa una contribución importante para la aplicación de este tipo de indicadores.

El reconocimiento de las limitaciones de los indicadores citogenéticos condiciona la necesidad de incursionar en la búsqueda de una dosimetría de respuesta rápida que permita dar un enfoque acertado en cuanto al proceder terapéutico.

Bertho⁹, Giovanetti¹⁰ y Blakely¹¹ representan estas nuevas tendencias que integran la dosimetría física con otros marcadores biológicos y sugieren cuál es la respuesta radioinducida en el caso de exposición. Estos autores implementan el siguiente esquema:

1. Signos y Síntomas clínicos.
2. Respuesta hematopoyética.
3. Química clínica de rutina.
4. Muestreo para la dosimetría citogenética.
5. Muestreo de biomarcadores de respuesta rápida complementada con la biodosimetría molecular (análisis rápido de los ácidos nucleicos).

Se necesita un enfoque multiparamétrico que combine la dosimetría física con la citogenética y garantice de esta manera, la adecuada selección del indicador genético^{12,13}.

Sin embargo, la biodosimetría molecular resulta útil en caso de accidente radiológico masivo por la rapidez de la respuesta y su amplia sensibilidad radiobiológica que abarca tanto los daños ligeros, moderados como los severos.

Como técnica de biodosimetría molecular, la determinación de la variación porcentual de la concentración de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica¹⁴ cumple con los requerimientos del dosímetro biológico ideal³.

La aplicación o utilización en individuos sobreexuestos requiere del estudio de los valores de referencia en población sana^{15,16}.

Se ha mostrado que la variación porcentual de los ácidos nucleicos leucocitarios¹⁷ en relación con el valor de base o rangos de referencias, es el mismo en animales de experimentación y en humanos, resultando fácilmente extrapolables los resultados en ambas poblaciones¹⁸.

La utilidad de esta técnica radica en que el efecto biológico, provocado por la exposición se manifiesta en un periodo largo (1, 3, 7, 10, 14 y 21 días), desapareciendo el efecto en días posteriores¹⁹. La variación porcentual de la concentración de los ácidos nucleicos es útil en todo tipo de radiaciones

ionizantes y no ionizantes, con una relación dosis-respuesta en rangos que van desde 0,1 Gy hasta dosis de 8 Gy²⁰.

La curva dosis- efecto²⁰ obtenida en animales de experimentación, evidencia un marcado descenso de la concentración de los ácidos nucleicos en relación con el aumento de la dosis de exposición, mostrando una tendencia lineal decreciente, que comienza a manifestarse a las 24 horas, siendo más marcada a las 72, pero la recta de mejor ajuste se logra con los puntos tomados a las 24 horas. En caso de sobrevida, este parámetro, los días 7 y 10, experimenta un incremento brusco (por encima del valor de base o rango de referencia), lo cual tiene un valor pronóstico de gran utilidad y que fue constatado en estudios realizados en animales de experimentación a diferentes dosis²¹. Estos efectos biológicos originados por la exposición a las radiaciones ionizantes han sido ampliamente documentados^{22,23} y resultan de la interacción de las radiaciones con las macromoléculas biológicas como por ejemplo, los ácidos nucleicos.

Según investigaciones epidemiológicas²⁴ realizadas, las radiaciones ionizantes pueden inducir mutaciones somáticas e incrementar la frecuencia de aparición de muchos tipos de tumores^{25,26}, así como generar un gran número de daños estructurales en la molécula de DNA, entre los que se destacan: modificaciones de bases, rupturas de enlaces fosfodiéster de la hélice, uniones covalentes intra e intercatenarias entre bases y proteínas. Muchas de estas alteraciones están directamente implicadas en eventos mutacionales y recombinogénicos y se les atribuye un papel determinante en la génesis de los procesos carcinogénicos y

de envejecimiento celular, por lo que la búsqueda de técnicas diagnósticas para la estimación de la dosis y la evaluación del daño para exposiciones agudas o crónicas sigue siendo un tema de relevancia científica²⁷.

Limitaciones asociadas al estado actual

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, las limitaciones del estado del arte que serán abordadas en esta tesis se fundamentan en:

1. La escasa disponibilidad de datos validados que permitan aplicar la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios como marcador biosimétrico de respuesta rápida en caso de daño biológico inducido por las radiaciones ionizantes en sujetos sobre-expuestos.
2. La no existencia de rangos de referencia de los ácidos nucleicos leucocitarios para la población cubana que puedan aplicarse a situaciones de exposición accidental a partir de datos obtenidos en modelos animales de experimentación.
3. La limitada disponibilidad de resultados que muestren el valor de los ácidos nucleicos leucocitarios en las exposiciones accidentales.

Problema de Investigación

Carencia de una metodología biodosimétrica validada de respuesta rápida basada en la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios aplicable a situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes.

Objetivo General

Desarrollar una metodología biodosimétrica de respuesta rápida basada en la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios aplicable a situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes.

1.1.1. Objetivos específicos

1. Validar el daño biológico radioinducido en modelos de animales de experimentación irradiados con el gammatrón Rokus a diferentes dosis a partir de la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios.
2. Determinar el rango de referencia de los ácidos nucleicos leucocitarios en sujetos sanos seleccionados de la población cubana aplicable a situaciones de sobre-exposición a las radiaciones ionizantes.
3. Establecer el valor pronóstico evolutivo de los ácidos nucleicos en el síndrome agudo en pacientes sometidos a trasplante de médula ósea.
4. Evaluar la capacidad de respuesta adaptativa en el síndrome crónico mediante la integridad de los valores cuantitativos de los ácidos nucleicos a partir de la experiencia con los niños de Chernobyl.

Hipótesis de la Investigación

La cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios en sangre periférica permite la clasificación del daño biológico radioinducido y establecer el pronóstico evolutivo en las exposiciones agudas, así como evaluar la capacidad de respuesta adaptativa en las exposiciones crónicas.

Materiales y Métodos

Como materiales de investigación se emplearon modelos animales conformados por ratas Wistar producidas por el Centro de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) para modelar las diferentes condiciones de irradiación. Se emplearon cajas de plexiglás de 3 plazas para la inmovilización de las ratas durante el tiempo de irradiación. Las ratas se irradiaron con el gammatrón Rokus instalado en el Instituto de Oncología y Radiobiología (INOR) empleando los siguientes parámetros:

- Distancia fuente superficie de la caja: 60 centímetros
- Abertura de los colimadores: 22 x 26 centímetros.
- Potencia de dosis en tejido: $1,58 \times 10^{-2}$ Gy/seg.

Las dosis impartidas a los animales se verificaron mediante el uso de una cámara de ionización adecuadamente calibrada en el Laboratorio Secundario del Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones (CPHR).

Se seleccionaron sujetos sanos que requieren con periodicidad de examen medico de control de salud, con criterios clínico-humorales para la determinación de cifras de referencia en población sana. A los sujetos seleccionados se les solicitó el consentimiento informado, para añadirle a la batería de complementarios la determinación de ácidos nucleicos leucocitarios.

Se seleccionaron pacientes del Servicio de Hematología del Hospital “Hermanos Ameijeiras” que serían sometidos a trasplante de médula ósea y niños provenientes de las áreas afectadas por el accidente de Chernobyl, Ucrania. A todos se les solicitó consentimiento informado.

Para las determinaciones en sangre periférica se empleó el equipo de hematología KX21 y para la bioquímica clínica se empleó el equipo automatizado Hitachi 704, ambos de la firma Roche.

La lectura espectrofotométrica de los ácidos nucleicos se realizó en un espectrofotómetro de la firma Pye UNICAM.

Se utilizó una fuente de Co-60 con tasa de dosis de 0,08 Gy/min para irradiar a los pacientes sometidos a trasplante de la médula ósea.

Los **métodos generales** empleados para desarrollar esta investigación fueron los métodos históricos-lógicos y análisis-síntesis para el estudio exploratorio de la situación actual del objeto de investigación en base a la información científica

publicada (revisión y actualización bibliográfica). Se utilizó el **método hipotético-deductivo** para identificar el problema científico sobre la base del estudio exploratorio realizado del objeto de investigación.

Se utilizaron **métodos estadísticos descriptivos** que se seleccionaron de acuerdo con los grupos estudiados. Estos métodos fueron los siguientes:

- Prueba de medias pareadas para comparar si existen diferencias significativas entre los grupos estudiados.
- Método de los percentiles para la definición de rangos de referencia en los grupos estudiados.
- Método de correlación de Pearson para la correlación entre variables de los grupos estudiados.
- Método de Spearman que permite clasificar los datos según la homogeneidad de las variables de las dinámicas temporales en los grupos estudiados, para variable homogénea permite realizar gráficos punto a punto y para las variables dispersas permite determinar la tendencia.
- Método de mínimos cuadrados para ajustar la recta de regresión lineal de concentración porcentual de ácidos nucleicos vs dosis.

Se emplearon **métodos específicos** para solucionar el problema científico planteado: Los métodos empleados fueron los siguientes:

- Método de Kryskii y Alexndrov que permite determinar la concentración de los ácidos nucleicos mediante una técnica espectrofotométrica¹⁴.
- Método para la determinación de la bioquímica sanguínea automatizada mediante el empleo de juegos de reactivos de la firma Roche.
- Método para la determinación de la hematología clínica con diferencial empleando el Contador de Células Sanguíneas KX21 de la firma Roche.
- Método para la determinación de radicales libres de Jentsch Axel M., Heint Bachmann, Peter Forst, and Hans K. Biessalski²⁸.
- Método espectrofotométrico para la determinación de la capacidad antioxidante²⁹.
- Método de planificación de dosis corporal en animales de experimentación empleando el Gammatrón Rokus.
- Método de planificación de dosis corporal en pacientes con protección pulmonar mediante Teleterapia con Co-60 según protocolo del Servicio de Radioterapia del Hospital "Hermanos Ameijeiras".
- Método de clasificación de acuerdo con los niveles de contaminación superficial por Cs-137 según UNSCEAR aplicado a los niños de Chernobyl según la localidad de procedencia^{30,31}.

Beneficios esperados

Contar por primera vez en el país con una metodología biodosimétrica de respuesta rápida, sencilla y aplicable en laboratorios convencionales basada en la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios, que pueda aplicarse a situaciones de sobre-exposición a las radiaciones ionizantes.

Límites del alcance de la investigación

La técnica de cuantificación de los ácidos nucleicos no permite establecer si el daño ocasionado por la exposición a las radiaciones ionizantes es directo o indirecto, si existieron errores o no durante la síntesis del ácido ribonucleico, y por tanto no se pronostica si existirán o no mutaciones derivadas de las mismas. El estudio de las mutaciones inducidas por exposición a las radiaciones ionizantes no es objeto de estudio en este trabajo.

Esta investigación limita su alcance al estudio de las curvas dosis-efecto para radiaciones gamma solamente. Otros tipos de radiaciones no forman parte del objeto de estudio de esta tesis.

2. DESARROLLO

Biodosimetría molecular aplicable a situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes

2.1.1. Valoración del contexto local, nacional y mundial

El objetivo de este capítulo es hacer una evaluación del estado actual de los aspectos biodosimétricos aplicables a sujetos expuestos a radiaciones ionizantes y su impacto en la radiobiología, a partir de estudios publicados por la comunidad científica internacional y el propio autor que permitan dar una visión integral de la importancia³³⁻³⁹ del desarrollo de este tema.

La utilización creciente de las radiaciones ionizantes y de la energía nuclear en diversos sectores como son medicina e industria, aporta un riesgo adicional para la ocurrencia de accidentes radiológicos. Por otro lado si la respuesta a esos sucesos no es adecuada (prevención secundaria), las consecuencias médicas, humanas, sociales, económicas y financieras pueden ser aún mas acentuadas.

Un antecedente muy importante considerado para desarrollar dosímetros biológicos de respuesta rápida y efectiva en la región de nuestro país, America Latina y el Caribe fue la no existencia de indicadores de este tipo para diagnóstico, evaluación y tratamiento del expuesto a radiaciones, de manera inmediata.

Debemos añadir que las personas expuestas en muchos casos no poseen dosímetros físicos, y esto conllevó a la comunidad científica en el contexto nacional, regional e internacional, a utilizar las alteraciones metabólicas y estructurales producidas en las células, (fundamentalmente en los ácidos nucleicos), los tejidos o en el organismo en general de las personas irradiadas, en función de estimación y clasificación del daño radiacional,

En el 1985 se creó el CPHR, como institución rectora en materia de seguridad radiológica y nuclear en el país.

En sus instalaciones se comienzan a desarrollar investigaciones en el campo de la radiobiología y se diseña y organiza un conjunto de estudios para el desarrollo de la dosimetría biológica. Los objetivos iniciales trazados para esta actividad fueron: introducción de la dosimetría citogenética y asimilar indicadores bioquímicos de respuesta rápida útiles para evaluar exposiciones accidentales a radiaciones ionizantes que no fueran rutinarios en hospitales del país, introduciendo indicadores específicos, para el desarrollo de esta línea investigativa.

Se tomaron experiencias mediante convenios e intercambios con países de América Latina, representada por la Autoridad Reguladora de Buenos Aires que tenía un potencial desarrollo en radiopatología clínica y en inicios se trabajó con dicha institución en indicadores citogenéticos^{40,41}.

Se incluyó el desarrollo de la línea indicadores bioquímicos de respuesta rápida mediante convenios con instituciones de Alemania y Bulgaria, que fueron países que empleaban instrumentos de medición existentes en nuestros laboratorios convencionales. De esta manera, se incorporaron a la línea : alfa-amilasa, índice creatina/creatinina, taurina y ácidos nucleicos leucocitarios, siendo este último el que mejor resultado aportó por su aplicabilidad tanto a exposiciones crónicas como agudas, amplia sensibilidad radiobiológica y la larga permanencia dosis-efecto que pudiera aplicarse a cualquier transmisión lineal de energía. Los autores Krittskii y Alexandrov, Minkova M., y Tenchova B, desarrollaron profundamente este indicador, en investigaciones vinculadas a la síntesis de radioprotectores en experimentación animal.

En nuestro ámbito se desarrolló primero en experimentación animal lo que permitió validar los resultados en humanos con la finalidad de aplicar sus cualidades potenciales en exposiciones accidentales, cumpliendo así recomendaciones dictadas además por la OMS y la UNSCEAR³

2.1.2. Estado actual del conocimiento del problema de investigación

Efectos biológicos causados por exposición a las radiaciones ionizantes

Aunque los seres humanos²⁴ hemos evolucionado en un ambiente de radiaciones ionizantes, al que contribuyen los rayos cósmicos, el radón y otros

radionucleídos terrestres, los efectos nocivos de las radiaciones ionizantes no fueron conocidos hasta el desarrollo de las fuentes fabricadas por el hombre

Descubrimiento de los rayos X: La era de las radiaciones comienza en 1895, cuando Roentgen anunció el descubrimiento de “un nuevo tipo de rayos” que podía penetrar el cuerpo humano y mostrar huesos fracturados. La primera radiografía fue tomada a su esposa, en enero de 1896.

Descubrimiento de la radiactividad natural del uranio: Antoine Henri Becquerel descubrió la radiactividad natural del uranio (1896), por lo que compartió el Premio Nobel de Física con Marie y Pierre Curie en 1903. En 1901, se reportó el primer efecto nocivo de la radiación: una grave quemadura atribuida al vial de radio, obtenido por Madame Curie, y transportado en el bolsillo del chaleco de Becquerel.

Primeros reportes de los efectos nocivos de la radiación:

- En 1902 se reporta el primer cáncer de piel inducido por la radiación en la mano de un radiólogo.
- La primera leucemia radioinducida fue descrita en 1911.
- En la década de 1920, varios casos de cáncer de hueso fueron asociados con la ingestión de grandes cantidades de radio por mujeres que pintaban esferas de relojes de pulsera y pared.

- En los 1930s, Thorotrast, una solución coloidal de dióxido de torio, fue comúnmente utilizada como un agente de contraste para diagnóstico, particularmente para angiografía cerebral. Thorotrast permanece en el organismo, se acumula en hígado provocando el desarrollo de cáncer de hígado y leucemia.
- Los primeros reportes de excesos de leucemias entre los radiólogos aparecieron en los años 1940s y excesos de cáncer atribuibles a irradiación médica fueron reportados en estudios analíticos en los años 1950s.

Según los conocimientos actuales, menos del 5% de los cánceres podrían tener relación directa con la exposición laboral. Las pruebas obtenidas en numerosos estudios, tanto experimentales, como clínicos, indican que una gran proporción de los cánceres humanos se asocian a los hábitos de consumo de alimentos, bebidas y tabaco.

En la actualidad no hay un único mecanismo que explique adecuadamente la manera en que se desarrolla un tumor. Sin embargo, existe un consenso generalizado respecto a que ciertos cánceres evolucionan a partir de la clonación de una única célula genéticamente modificada.

En la causa y desarrollo del cáncer parecen intervenir una serie de pasos esenciales, clásicamente conocidos como las etapas de iniciación, promoción y progresión.

La conversión neoplásica se inicia con la alteración del ADN cromosómico en una única célula, alteración que se debería a la agresión directa provocada por una forma reactiva del cancerígeno o a una agresión indirecta, a través de la generación de radicales hidroxilo.

Los agentes carcinógenos pueden ser de naturaleza:

- Química (Entre ellos se incluyen las especies reactivas del oxígeno o radicales libres, como el radical hidroxilo, entre otros.
- Física (radiaciones ionizantes, no ionizantes y la radiación UV)
- Biológica (ciertos virus oncogénicos)

La mayoría de los cancerígenos humanos son genotóxicos. Por lo tanto, cuando se establece que un determinado agente es genotóxico, se está indicando un riesgo potencial de cáncer para el hombre, siempre que la dosificación y la cronicidad de la exposición sean las apropiadas.

Se ha demostrado que ciertos productos químicos y la radiación ionizante, así como los factores relacionados con los hábitos de vida, interaccionan con el Ácido Desoxirribonucleico (ADN) contenido en los cromosomas, y que esta reacción puede tener importantes consecuencias funcionales.

Otros productos, que no interaccionan con el ADN -agentes promotores, no genotóxicos- ejercen un efecto “catalizador” de la inducción del cáncer, facilitando ciertos mecanismos o efectos epigenéticos.

Todas las moléculas y macromoléculas que constituyen la materia viva son susceptibles de ser ionizadas y provocar con esto algún tipo de efecto biológico. Una molécula de gran relevancia, por su abundancia en la composición de los seres vivos es el agua y entre las macromoléculas, el ácido desoxirribonucleico (ADN) por su carácter de portador de la información genética codificada (un triplete de nucleótidos por cada aminoácido de la proteína codificada) para comandar las funciones de mantenimiento vital y reproducción celular²⁴.

Las macromoléculas restantes, (proteínas, lípidos e hidratos de carbono) pueden sufrir ionización y provocar algún tipo de daño biológico, aunque centraremos nuestra atención en el ADN.

Mecanismos de acción directos e indirectos

Las partículas cargadas eléctricamente, tales como las partículas alfa y beta, pueden ionizar directamente los átomos del material con el que interactúan y se denominan "radiaciones directamente ionizantes",

Las radiaciones electromagnéticas y los haces de neutrones, que no poseen carga eléctrica, al interactuar con la materia liberan partículas cargadas (electrones) que son las que a su vez ionizan a los átomos del material biológico. A estas radiaciones se les denomina "indirectamente ionizantes".

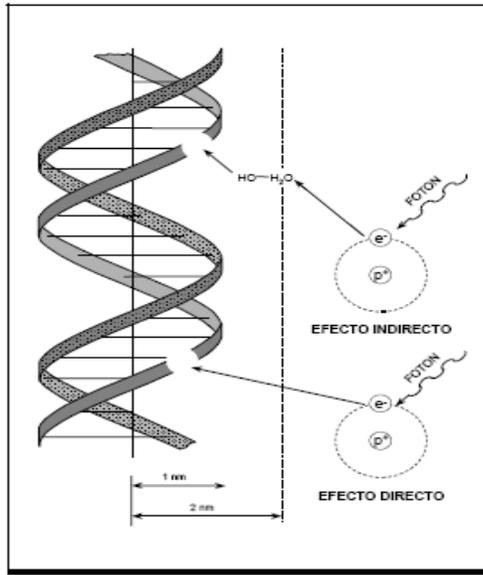


Figura 1. Efectos directos e indirectos de las radiaciones ionizantes

La Fig. 1 muestra el **efecto directo** cuando las radiaciones ionizantes actúan directamente sobre el DNA y el **efecto indirecto**, cuando sobre el DNA actúan los radicales producidos durante la radiólisis del agua. En ambos casos puede producirse alguno o varios de los siguientes efectos ²³⁻²⁵:

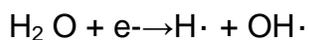
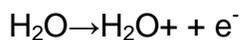
- 1- Ruptura de cadenas (centraremos la atención sobre este efecto): La ruptura puede producirse en una cadena, o en las dos de la doble hélice, en general en la unión fosfodiéster.
- 2- Alteración de las bases: Pueden ser destruidas, produciéndose la pérdida, o modificadas, conduciendo a una *sustitución*. Cualquiera de estos hechos acarrea la alteración de la secuencia normal de nucleótidos en un gen que pasará a codificar una proteína diferente (o directamente no se expresará).

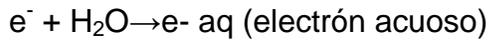
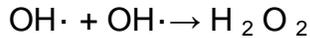
- 3- Alteración de los azúcares: La oxidación de los azúcares puede conducir a su desprendimiento, acompañado de la liberación de la base unida a él.
- 4- Formación de puentes: El efecto indirecto tal como se muestra en la Fig.1, aparece mediante la acción de las radiaciones ionizantes sobre el agua, ocasionando una radiólisis, la que trae aparejada la formación de especies reactivas del oxígeno o formación de radicales libres, los cuales interactúan sin necesidad de energía de activación, por lo que son altamente reactivos.

Los radicales libres R⁻ son especies químicas con electrones desapareados en su orbital externo por lo cual presentan una alta reactividad química (gran tendencia a “secuestrar” e⁻). Su vida media es muy corta y no sólo son el resultado de factores exógenos (como la radiación) sino que resultan de los procesos celulares fisiológicos. La célula cuenta con mecanismos (enzimáticos y no enzimáticos) para eliminar los radicales libres producidos.

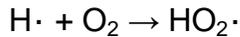
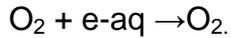
La serie de eventos desencadenados por la radiólisis del agua puede resumirse:

Radiación:

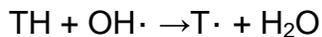




En sistemas aerobios:



El efecto más tóxico estará generado por el radical hidroxilo (OH.)



En resumen el balance entre daños y reparación puede tener 3 posibles resultados: la célula sobrevive inalterada (reparación completa y correcta), *muere* con mayor probabilidad al entrar en división (no reparación o reparación incorrecta) o *sobrevive transformada* (reparación incorrecta que conserva “mutaciones” o cambios en un sentido amplio que son compatibles con la vida y la división celular)^{23,24}.

Efectos determinísticos de las radiaciones ionizantes

La mayoría de los órganos y tejidos del cuerpo no ve afectada su funcionalidad por la muerte de un escaso número de células pero, si la pérdida es lo suficientemente elevada se producirá un daño susceptible de ser observado. La probabilidad de que se produzcan tales efectos es nula a dosis pequeñas, pero

por encima de un determinado nivel de dosis denominado umbral aumenta su frecuencia y severidad.

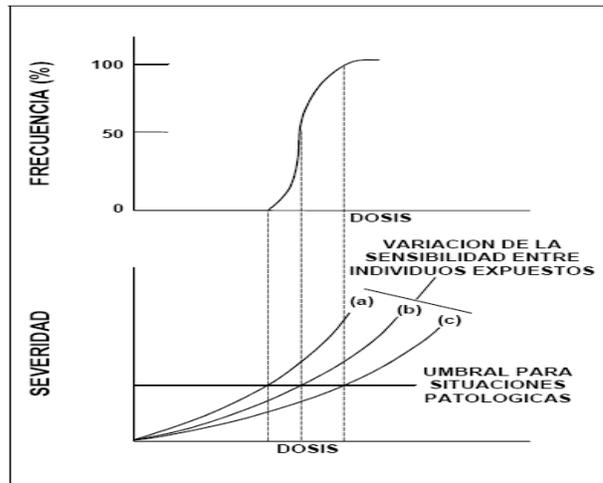


Figura 2. Efectos determinísticos asociados a situaciones patológicas

Tal como se ha visto, los cambios iniciales a nivel molecular y celular se producen esencialmente de forma aleatoria, pero el hecho de que se requiera un número mínimo de células afectadas que implique un daño clínicamente observable, le confiere a este tipo de efectos un carácter determinístico. Con dosis inferiores al umbral, pueden tener lugar efectos sub-clínicos que no implican afectación de la funcionalidad del tejido en cuestión.

La frecuencia y severidad de un efecto determinístico caracterizado por una determinada condición patológica, aumenta en función de la dosis en una población de individuos con variada sensibilidad. Los individuos que presentan una mayor radiosensibilidad pueden manifestar un efecto dado con dosis

menores que las necesarias para producir el mismo efecto en individuos menos radiosensibles^{23, 24, 26,27}.

Los efectos determinísticos pueden ser tempranos o tardíos. El tiempo post-irradiación a partir del cual se puede detectar un efecto determinístico depende, entre otros factores, de la cinética de proliferación del tejido irradiado. Los tejidos de renovación rápida como la médula ósea y la epidermis manifiestan el daño a corto plazo (días, semanas). Los tejidos de renovación lenta como el tejido conectivo y el vascular, evidencian clínicamente el daño radioinducido en forma tardía (meses o años después de la irradiación).

Estos efectos pueden ocurrir como consecuencia de una irradiación externa o interna, instantánea o prolongada, sobre todo el cuerpo o parte de él (global, parcial o localizada), provocando la muerte de una cantidad de células tal, que no pueda ser compensada por la proliferación de células viables. La pérdida resultante de células puede comprometer la función de un órgano o tejido ²⁴.

Efectos estocásticos de las radiaciones ionizantes

Cuando existen modificaciones celulares ²⁴ (“mutaciones” en su sentido más amplio) compatibles con la supervivencia de la célula modificada, se expresan en los llamados efectos estocásticos.

Si la célula modificada pertenece a la estirpe germinal, el efecto será observable en los descendientes: y estos son los efectos estocásticos hereditarios.

Si la modificación se produce en una célula somática constituye una transformación neoplásica y la progenie derivada de esta célula constituirá un clon que puede conducir al cáncer como efecto estocástico somático, en el mismo individuo. Los efectos estocásticos (que conservan su aleatoriedad original dado que son expresión de lo sucedido a “una sola célula”), se caracterizan por la ausencia de umbral, tiene un largo período de latencia (caso de los efectos hereditarios) y probabilidad de ocurrencia en años, antes de que se exprese el cáncer, o en las generaciones posteriores.

Síndrome agudo por exposición a las radiaciones ionizantes (SAR)

Se define como síndrome agudo de radiación^{23,24} (SAR), al conjunto de síntomas y signos consecutivos a una irradiación de todo el cuerpo, cuya severidad depende de la magnitud de la dosis absorbida y de su distribución temporo-espacial. El SAR es una manifestación del tipo determinístico, esto es, solamente se desarrolla si se alcanza un cierto umbral de dosis. Para exposiciones agudas y únicas, este umbral se encuentra entre 0,8 y 1 Gy.

El Síndrome Agudo de Radiación (SAR) tiene diferentes manifestaciones clínicas en dependencia de la dosis recibida:

- Hematopoyética: para dosis comprendidas entre 1-10 Gy
- Gastrointestinal: dosis entre 10-20 Gy
- Neurovascular: con dosis superiores a los 20 Gy.

A su vez, cada una de estas 3 formas del SAR evoluciona clínicamente en 4 fases sucesivas: Prodromal, Latencia, Crítica o de Estado y Recuperación o Muerte.

Tanto la severidad como la cronología de aparición de las manifestaciones clínicas del SAR dependen de la dosis y se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Manifestaciones clínicas en relación con las dosis.

Dosis en Gy.	Manifestaciones Clínicas
0.25 Gy	No hay manifestaciones clínicas solo puede detectarse un aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, en los linfocitos, pérdida de ácidos nucleicos en un 10% a 20 %
0.25 a 1 Gy	Sin síntomas o náuseas transitorias, disminución de linfocitos acompañada en ocasiones con reducción leve en el número de plaquetas. En algunos pacientes cambios en el Electroencefalograma. Tratamiento sintomático con vigilancia médica. Pérdida de ácidos nucleicos entre 20% y 30%.
1 a 2 Gy	Grado leve de la forma hematopoyética del SAR, presentándose náuseas y vómitos en las 1 ^{ras} horas. Entre las 6 y 8 semanas hay una discreta disminución del número de neutrófilos y plaquetas que no compromete el pronóstico vital. Hay recuperación sin tratamiento acompañada de seguimiento hematológico. Pérdida de ácidos nucleicos: 30%-50%
2 a 4 Gy	Grado moderado de la forma hematopoyética del SAR, presentándose náuseas y vómitos entre las 2 horas posterior al incidente..Entre las 3 y 4 semanas hay la disminución más baja del número de neutrófilos que se acompañan de fiebre y hemorragia. Estos pacientes se pueden recuperar. Perdida de ácidos nucleicos: 30%-50%.
4 a 6 Gy	Grado severo de la forma hematopoyética, presentándose náuseas y vómitos entre las 0.5 a 1 hora posterior al incidente. Entre las 2 y 3 semanas hay la disminución más baja del número de neutrófilos que se acompañan de fiebre y eritema en piel y mucosas y persisten 2 semanas. Estos pacientes se pueden recuperar con tratamiento de sostén. Perdida de los ácidos nucleicos :50% - 70%

6 a 10 Gy	Grado extremadamente severo de la forma hematopoyética, presentándose diarrea en 1 o 2 horas. Los niveles más bajos del número de neutrófilos y plaquetas se detectan entre los 10 y 14 días. Sin el tratamiento correspondiente la mortalidad alcanza el 100%. Si la terapia es apropiada una fracción de los sobreexuestos se puede recuperar. La mortalidad está dada por la grave insuficiencia hematopoyética y lesiones en otros órganos tales como el tracto gastro- intestinal y el pulmón. Pérdida de ácidos nucleicos mayor al 70%.
-----------	---

Síndrome crónico por exposición a las radiaciones ionizantes

El síndrome crónico⁵⁴ por radiación ionizante, es una manifestación del tipo estocástico, esto es, se desarrolla sin umbral de dosis, en exposiciones crónicas, a lo largo del tiempo con un largo período de latencia y sin manifestaciones clínicas.

Las personas están expuestas a la radiación natural a diario. La radiación natural proviene de muchas fuentes, como los más de 60 materiales radiactivos naturales presentes en el suelo, el agua y el aire. El radón es un gas natural que emana de las rocas y la tierra y es la principal fuente de radiación natural. Diariamente inhalamos e ingerimos radionúclidos presentes en el aire, los alimentos y el agua.

Asimismo, estamos expuestos a la radiación natural de los rayos cósmicos, especialmente a gran altura. Por término medio, el 80% de la dosis anual de radiación de fondo que recibe una persona procede de fuentes de radiaciones naturales, terrestres y cósmicas. Los niveles de la radiación de fondo varían

debido a diferencias geológicas. En determinadas zonas la exposición puede ser más de 200 veces mayor que la media mundial.

La exposición humana a la radiación proviene también de fuentes artificiales que van desde la generación de energía nuclear hasta el uso médico de la radiación para fines diagnósticos o terapéuticos. Hoy día, las fuentes artificiales más comunes de radiación ionizante son los aparatos de rayos X, radiofármacos y otros dispositivos médicos^{22, 23}.

Tipos de exposición.

La exposición a la radiación puede ser interna o externa, y puede tener lugar por diferentes vías.

La **exposición interna** a la radiación ionizante se produce cuando un radionúclido es inhalado, ingerido o entra de algún otro modo en el torrente sanguíneo (por ejemplo, inyecciones o heridas). La exposición interna cesa cuando el radionúclido se elimina del cuerpo, ya sea espontáneamente (por ejemplo, en los excrementos) o gracias a un tratamiento.

La **contaminación externa** se puede producir cuando el material radiactivo presente en el aire (polvo, líquidos, aerosoles) se deposita sobre la piel o la ropa. Generalmente, este tipo de material radiactivo puede eliminarse del organismo por simple lavado.

La exposición a la radiación ionizante también puede resultar de la irradiación externa (por ejemplo, la exposición médica a los rayos X). La irradiación externa se detiene cuando la fuente de radiación está blindada o la persona sale del campo de irradiación.

Efectos de las radiaciones ionizantes en la salud

El daño que causa la radiación en los órganos y tejidos depende de la dosis recibida, o dosis absorbida, que se expresa en una unidad llamada gray (Gy). El daño que puede producir una dosis absorbida depende del tipo de radiación y de la sensibilidad de los diferentes órganos y tejidos^{22,23,30}.

El sievert (Sv) es una unidad de dosis de radiación ponderada, también llamada dosis efectiva. Es una manera de medir la radiación ionizante en términos de su potencial para causar daño. El sievert tiene en cuenta el tipo de radiación y la sensibilidad de los tejidos y órganos. El sievert es una unidad muy grande, por lo que resulta más práctico utilizar unidades menores, como el milisievert (mSv) o el microsievert (μ Sv). Además de utilizarse para medir la cantidad de radiación (dosis), también es útil para expresar la velocidad a la que se entrega esta dosis (tasa de dosis), por ejemplo en μ Sv/hora o mSv/año.

Más allá de ciertos umbrales, la radiación puede afectar el funcionamiento de órganos y tejidos, y producir efectos agudos tales como enrojecimiento de la piel, caída del cabello, quemaduras por radiación o síndrome de irradiación aguda. Estos efectos son más intensos con dosis más altas y mayores tasas de

dosis. Por ejemplo, la dosis subliminar para el síndrome de irradiación aguda es de aproximadamente 1 Sv (1000 mSv).

Si la dosis es baja o se recibe a lo largo de un periodo amplio (tasa de dosis baja) hay más probabilidades de que las células dañadas se reparen con éxito. Aun así, pueden producirse efectos a largo plazo si el daño celular es reparado, pero incorpora errores, transformando una célula irradiada que todavía conserva su capacidad de división. Esa transformación puede producir cáncer transcurridos años o incluso decenios. No siempre se producen efectos de este tipo, pero la probabilidad de que ocurran es proporcional a la dosis de radiación. El riesgo es mayor para los niños y adolescentes, ya que son mucho más sensibles que los adultos a la exposición a la radiación.

Los estudios epidemiológicos de poblaciones expuestas a la radiación³⁰ (sobrevivientes de la bomba atómica o pacientes sometidos a radioterapia) muestran un aumento significativo del riesgo de cáncer con dosis superiores a 100 mSv.

La radiación ionizante puede producir daños cerebrales en el feto tras la exposición prenatal aguda a dosis superiores a 100 mSv entre las 8 y las 15 semanas de gestación y a 200 mSv entre las semanas 16 y 25. Los estudios en humanos no han demostrado riesgo para el desarrollo del cerebro fetal con la exposición a la radiación antes de la semana 8 o después de la semana 25. Los

estudios epidemiológicos indican que el riesgo de cáncer tras la exposición fetal a la radiación es similar al riesgo tras la exposición en la primera infancia.

Exposición a la radiación en emergencias nucleares

Durante los accidentes en plantas de energía nuclear puede liberarse material radiactivo al medio ambiente²⁴. Los radionúclidos más preocupantes para la salud humana son el yodo-131 y el cesio-137.

Durante la respuesta a esas emergencias es probable que se produzca exposición ocupacional, interna o externa, de los rescatadores, del personal de primeros auxilios y trabajadores de las centrales nucleares. Las dosis de radiación pueden ser suficientemente altas como para causar efectos agudos, tales como quemaduras en la piel o síndrome de irradiación aguda.

Quienes viven muy cerca de centrales nucleares pueden sufrir exposición externa a los radionúclidos presentes en unas nubes radiactivas o depositadas en el suelo. También se pueden contaminar externamente por partículas radiactivas depositadas en la piel o la ropa. También puede haber exposición interna si los radionúclidos se inhalan, ingieren o introducen en heridas abiertas.

La población en general no es probable que se vea expuesta a dosis suficientemente altas para causar efectos agudos, pero sí a dosis bajas, padeciendo de exposiciones crónicas, que podrían aumentar el riesgo de efectos

a largo plazo, como el cáncer. El consumo de agua o alimentos contaminados contribuye a la exposición global a la radiación^{22,30}.

Los efectos más conocidos por exposiciones crónicas son las carcinogénesis, aunque no son estas las únicas patologías presentadas ya que estudios recientes demuestran la aparición en el tiempo de:

- Isquemias cardiovasculares y cerebrovasculares⁵⁶⁻⁵⁸
- Cánceres sólidos⁵⁷.
- Daño hematopoyético, acompañado de linfocitopenia, o leucopenia⁵⁷.
- Apariciones de aberraciones cromosómicas y mutaciones en linfocitos, no acompañados de una correcta respuesta de reparación de daño⁵⁸.
- Cambios funcionales moderados o severos en tejidos radiosensibles, como por ejemplo: leucopenia, neutropenia, linfopenia, aplasia medular, astenia, lesiones orgánicas del sistema nervioso central, o trastornos en el ciclo menstrual⁵⁶.

Es importante señalar que otros autores observaron un incremento en la frecuencia de micronúcleos, cromosomas dicéntricos, mutaciones somáticas mostrando una marcada disminución del sistema antioxidante frente al estrés oxidativo, comprobado por el deterioro manifestado en cambios somáticos y

aberraciones cromosómicas, indicando el descenso de la defensa antioxidante que condiciona la inestabilidad genómica⁵⁷.

- Carcinogénesis radioinducida.
- Carcinogénesis.

Se denomina carcinogénesis a la sucesión de eventos que llevan a la aparición de un cáncer. Se incluyen bajo esta denominación a un conjunto de enfermedades que pueden afectar distintos órganos, que tienen como elemento común el crecimiento celular ilimitado, invasivo, potencialmente letal. La manifestación clínica de un cáncer es el resultado final de una serie de cambios celulares producidos a lo largo de un tiempo muy prolongado (años), denominado período de latencia. Los agentes capaces de inducir este tipo de cambios en las células se llaman carcinógenos.

La carcinogénesis es un proceso complejo, de etapas múltiples, que tiene su origen en mutaciones relativamente simples a nivel del ADN de una célula. Si el daño radioinducido en el ADN no es reparado de manera adecuada pero la falla resultante (mutación) es compatible con la vida de la célula, ésta célula transformada puede dar origen a una familia de células idénticas (“clon”) con potencialidad para resultar en un cáncer clínicamente manifiesto. Cuando un tumor es clínicamente evidente contiene alrededor de 10^9 células.

Desde el punto de vista biológico, el cáncer radioinducido no presenta diferencias respecto del cáncer que aparece espontáneamente en una población

dada: es decir que, hasta el momento no existe ningún indicador que permita demostrar con certeza que un cáncer determinado ha sido o no inducido por la radiación. Es por eso que la cuantificación del riesgo de cáncer radioinducido en humanos se basa fundamentalmente en los denominados estudios epidemiológicos que comparan riesgos entre poblaciones expuestas y no expuestas²⁴.

Distribución temporal de la dosis

Cuando la dosis total es impartida en varias fracciones el efecto observado es menor que cuando esta se imparte en una sola fracción²⁵. Esto obedece a varios factores, entre otros: reparación del daño subletal, reparación del daño potencialmente letal y repoblación de las células sobrevivientes, redistribución de las células en el ciclo mitótico y reoxigenación de células hipóxicas.

Radiosensibilidad La radiosensibilidad se define como la mayor o menor afectación celular de los diferentes tejidos orgánicos por las radiaciones ionizantes. Desde 1906 se aceptan las leyes descritas por Bergonié y Tribondeau que afirman que la radiación ionizante es más eficaz sobre las células que son activamente mitóticas (o sea que se dividen mucho), que no están diferenciadas (o sea que no han alcanzado un elevado grado de especialización en su forma y funciones) y que tienen por delante un largo futuro de divisiones. Así, por ejemplo, en el testículo, el espermatozoide es la célula madura y las espermatogonías son las células madre o indiferenciadas, y son

por tanto más radiosensibles. En el sistema hematopoyético (responsable de la formación de sangre circulante, es la célula sanguínea), el hematíe o eritrocito que existe en la sangre circulante, es la célula madura diferenciada, y el eritroblasto, localizado en la médula ósea, es la célula madre no diferenciada y más radiosensible. Existen excepciones como la del linfocito (un tipo de glóbulo blanco, formado a expensas de la célula madre: el linfoblasto) que aunque muy diferenciado, es muy radiosensible. A nivel de tejidos y órganos, su radiosensibilidad dependerá del tipo de células que los constituyan. Los tejidos y órganos están formados por el parénquima (que contiene las células características del tejido u órgano) y el estroma (tejido conjuntivo y vascular que actúa como estructura de soporte) y generalmente se daña primero el parénquima. La respuesta celular a la radiación se puede modificar por factores externos a la propia célula como serían algunos productos químicos (que alterarán el efecto de los radicales libres producidos) o la propia LET y tasa de dosis como ya se ha indicado.

Respuesta celular a la radiación. La respuesta celular a la radiación se suele estudiar con la curvas de supervivencia celular (número de células supervivientes en función de la dosis) que presentan casi siempre forma exponencial más o menos complicada en función de que se suponga la célula muerta con un solo impacto, como podría ser el caso de los virus, o con varios impactos, como sería el caso de las bacterias^{2,4}.

Una posible respuesta a la radiación es la muerte celular antes de que la célula entre en mitosis. Los linfocitos, por ejemplo, la presentan a dosis menores de 0,5 Gy (caso especial, ya que la dosis es muy baja). Se supone que este efecto es consecuencia de cambios bioquímicos. Otro posible efecto es el retraso mitótico que como su nombre indica, es un retraso de la evolución normal hacia la mitosis y que suele dar lugar a una sobrecarga mitótica en el período postirradiación ya que llegarán a la mitosis las células que les corresponde en evolución normal más aquellas que se habían retrasado. Normalmente se define el índice mitótico como el cociente entre el número de células que están en mitosis en cada instante y el número total de células. El tercer tipo de efecto que se observa es el llamado fallo reproductivo que consiste en la incapacidad de las células para experimentar divisiones repetidas después de la irradiación (sólo se pueden dividir una o dos veces pero no más, por tener parte de su estructura dañada). La respuesta celular a la radiación se suele estudiar con las curvas de supervivencia celular (número de células supervivientes en función de la dosis). Las curvas de respuesta resultan ser exponenciales debido al carácter probabilístico de la interacción de la irradiación con la materia. Así, si se irradia una población celular de n blancos, (siendo $n > 1$ con una dosis dada, algunas células de la población sufrirán impactos en solo algunos blancos (lesión subletal) y otras no sufrirán ningún impacto. A medida que aumenta la dosis, hay mayor probabilidad de que se produzca la ionización en zonas previamente impactadas resultando la dosis altas, más eficaces para producir la muerte celular.

Factores que influyen la respuesta: (físicos, químicos y biológicos) Como ya se ha indicado con anterioridad, existen distintos tipos de factores que son capaces de afectar la respuesta celular a la radiación. Los factores físicos más importantes son la LET (transferencia lineal de energía) y la tasa de dosis. Las radiaciones con mayor transferencia lineal de energía provocan mayor efecto biológico y las tasas de dosis altas, provocan también mayor efecto biológico que las bajas. La ICRP²⁵ (Comisión Internacional de Protección Radiológica) considera aceptable utilizar un factor 2 para comparar la respuesta a bajas tasas de dosis frente a las altas tasas de dosis. Algunos agentes químicos pueden actuar como radiosensibilizantes (como el oxígeno, que aumenta la eficacia de la radiación debido a que potencia la formación de radicales libres y hace irreversibles muchos de los daños causados por la radiación) o radioprotectores (deben estar presentes en el momento de la irradiación) que suelen ser compuestos químicos que contiene el grupo sulfhidrilo (SH) como la cisteína y la cisteamina. Se supone que los radioprotectores actúan reduciendo el número de radicales libres generados en la acción indirecta de las radiaciones.

El efecto del oxígeno como radiosensibilizante es tan importante que se ha definido una relación de potenciación del oxígeno (OER = oxigen enhancement ratio) como el cociente entre la dosis de radiación que produce un determinado efecto biológico en ausencia de oxígeno (células hipóxicas) y la dosis de radiación que produce la misma respuesta biológica en presencia de oxígeno. Para las células de los mamíferos, la OER es del orden de 2,5 si se irradia con

baja LET y disminuye mucho si se irradia con alta LET. Finalmente, los factores biológicos que afectan la respuesta celular a la radiación son: a) el momento del ciclo celular cuando se produce la irradiación (las células son más radiosensibles justo antes de la mitosis y durante la mitosis que después de la misma o durante la síntesis del DNA), y b) capacidad de la células para reparar las radiolesiones. Si los impactos se producen con un cierto intervalo de tiempo, pueden actuar los mecanismos de reparación. La falta de oxígeno entorpece la capacidad de reparación.

Respuesta sistémica a la radiación Al hablar de respuesta sistémica a la radiación nos referimos a la respuesta de un sistema que dependerá de los órganos que lo constituyan y la de éstos, de sus tejidos (tanto el parénquima como el estroma) y de las poblaciones celulares de estos tejidos. La referencia a dosis bajas, moderadas o altas se hace con órdenes de magnitud inferiores a 1 Gy, entre 1 y 10 Gy y superiores a 10 Gy, respectivamente, y suponiendo que se reciben de una sola vez y en un solo órgano. La respuesta a la radiación de un sistema u órgano se define como el conjunto de cambios morfológicos y/o funcionales detectables, producidos por una dosis de radiación en un cierto tiempo y estará función de la dosis y del tiempo post-irradiación que transcurre hasta la valoración del efecto. Evidentemente los cambios que se observan no son característicos de las radiaciones ionizantes y pueden ser producidos por otros agentes. La respuesta morfológica se produce en dos fases:

1. Cambios iniciales (durante los primeros seis meses) que pueden ser reversibles o irreversibles. Son alteraciones iniciales típicas (debidas sobre todo a modificaciones en la permeabilidad celular) las inflamaciones, edemas (acumulaciones anómalas de líquido orgánico intra o extracelular) y hemorragias.

2. Cambios tardíos que pueden ser permanentes, irreversibles y/o progresivos. La curación de los efectos de las radiaciones ionizantes sobre un órgano o más sistemas se puede dividir en:

a) **regeneración**, cuando la sustitución de las células dañadas se hace por el mismo tipo de células que ya existían antes de la irradiación; supone una restitución total de la función;

b) **reparación**, cuando la sustitución de las células se limita a tapar la ruptura de la doble hélice (por ejemplo, una cicatrización por tejido conjuntivo).

Las alteraciones tardías más típicas son: fibrosis (acumulación inferior a lo normal o función disminuida), ulceraciones, necrosis, etc. Se podría hacer una breve descripción de los efectos y radiosensibilidad de los órganos y tejidos más importantes del cuerpo humano concretándolos en los siguientes términos: Sistema hematopoyético; formado por médula ósea /muy radiosensible), sangre circulante (radiatorresistente excepto los linfocitos), ganglios linfáticos, bazo y timo (muy radiosensibles). El efecto primario de la radiación sobre la médula es disminuir el número de células madre (célula STEM) y por tanto la posterior

disminución del número de células circulantes: hematíes o eritrocitos (también llamados glóbulos rojos), los granulocitos o leucocitos, también llamados glóbulos blancos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y las plaquetas o megacariocitos formadas a partir de las células madre eritroblastos, mieloblastos y megacarioblastos, respectivamente situados fundamentalmente en la médula ósea. Los linfocitos y los monocitos formados a partir del linfoblasto y monoblasto que se sitúan fundamentalmente en ganglios linfáticos, timo y bazo. Piel, en la epidermis, las células más radiosensibles son las de la capa basal, indiferenciadas y en continua división para producir células que reemplazan a las que se pierden en la superficie de la piel (capa córnea). Se observan efectos iniciales que de menor a mayor gravedad serán el eritema, depilación y pigmentación y los diferentes tipos de radiodermatitis (seca o descamativa, húmeda o ampollosa y necrotizante o radionecrosis), con irradiaciones agudas en el orden de los 10 a 20 Gy. Sistema digestivo, formado por cavidad bucal, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso, recto, glándulas salivares, hígado y páncreas. La parte más radiosensible es el intestino delgado debido al gran número de formaciones linfáticas que contiene. Sistema reproductor, en el aparato genital masculino, el órgano más radiosensible es el testículo que como se sabe está constituido por un primer tipo de células (espermatogonias y espermatozoides) con misión reproductora, y un segundo tipo de células cuya misión es la producción de hormonas masculinas; siendo este segundo tipo muy resistentes a la radiación es por lo que se explica que en la castración del varón se suprima la actividad reproductora sin afectación de

sus caracteres sexuales masculinos. Se produce esterilidad temporal con 2,5 Gy y permanente con 5 Gy. Con respecto al aparato genital femenino, el ovario es el órgano más radiosensible y de forma distinta que en el varón, al producir la destrucción de las células ovulares, se va a originar no solamente una castración o esterilidad sino también una pérdida de los caracteres sexuales femeninos secundarios, ya que la producción de las hormonas femeninas se debe a las células de la teca y de la granulosa que rodean al óvulo dentro del folículo y que también se afectan a esa dosis. En la mujer, el número de óvulos es fijo en el momento del nacimiento (alrededor de 500.000 en cada ovario) y llegada la pubertad y hasta la menopausia se produce la maduración de uno de estos óvulos en cada ciclo (por lo general). De esta forma, la dosis necesaria para producir una castración permanente en una mujer joven será mayor en una premenopáusica al tener ésta menor número de óvulos (de 3 a 5 Gy). De los tres posibles efectos a considerar en gónadas: introducción de tumores malignos, esterilidad y efectos hereditarios para los descendientes, son estos últimos los más importantes⁵⁷.

En el sistema ocular, el cristalino tiene células que se dividen, activamente y no existe mecanismo para sustituir las células dañadas. Se forman cataratas (opacidad del cristalino) por coagulación de proteínas a partir de los 2 Gy. La ICRP diferencia entre opacidades detectables y cataratas. Se consideran diferentes umbrales en función de que se trate de una exposición única, o de exposiciones muy fraccionadas en un cierto momento de la vida o de

exposiciones muy fraccionadas recibidas durante muchos años. El desarrollo de cataratas depende de la dosis, de la edad del individuo, y si se irradia todo el cristalino o tan sólo una parte del mismo. Los umbrales citados por la ICRP son los siguientes: Opacidad: 0,5-2,0 Sv (en exposición única) y Detectable: 5 Sv (en exposición fraccionada) > 0,1 Sv/año (tasa anual continuada).

El sistema cardiovascular, formado por los vasos sanguíneos y el corazón. Las lesiones de los vasos pueden significar la oclusión de los mismos. El corazón se creía que era radiorresistente aunque hoy se duda de su radiorresistencia. Huesos y cartílagos, se consideran radiorresistentes, excepto si están en crecimiento. Sistema respiratorio, formado por laringe, tráquea y pulmón. Los pulmones presentan respuesta observable para dosis del orden de 10 Gy. Se produce una inflamación denominada neumonitis por radiación. Sistema urinario, formado por riñones, uréteres, vejiga y uretra. Los riñones tienen sensibilidad análoga a la del pulmón. Las lesiones (nefritis por radiación), son consecuencia de lesiones vasculares. Sistema nervioso central (SNC), formado por cerebro y médula espinal; es muy radiorresistente (está formado por células bien diferenciadas que no se dividen – neuronas-). El nivel umbral de las lesiones en SNC se suele situar entre 20 y 40 Gy. Por alteración vascular, se produce edema cerebral con hipertensión intracraneal y muerte. Si la dosis no es tan alta, se produce una meningoencefalitis o una mielitis (afectación en médula)^{22-25,30}.

Técnicas biodosimétricas moleculares

Los últimos reportes de la UNSCEAR²⁶ (Comité Científico de Naciones Unidas sobre los efectos de la radiación atómica) recomiendan trabajar varios indicadores del campo de la dosimetría citogenética¹⁻⁹ y paralelamente desarrollar dosimetría física, evaluación enzimática⁵⁹ y la biodosimetría molecular, representada por los ácidos nucleicos como indicadores de respuesta rápida, que son menos costosos y de fácil implementación en laboratorios convencionales, y evaluar así de forma multiparamétrica las sobreexposiciones o emergencias radiológicas^{11,15-16}. Esta estrategia ha sido seguida en el contexto nacional.

Los indicadores más actuales y novedosos de respuesta rápida^{15,16,22,23} citados en la literatura internacional son: la citrulina, el ligando Fl₃, y la glucoporfirina A, teniendo en común, que son costosos y evaluadores de sistemas de órganos.

1. Citrulina, evaluadora del estado del tracto gastro digestivo que utiliza el métodos de cromatografía HPLC.
2. Ligando Fl₃, refleja cambios en el sistema hematopoyético y requiere de un método de inmunoensayo por Kit de ELISA.
3. Resonancia paramagnética, en los dientes y uñas fundamentados en que la radiación provoca una señal estable de resonancia localizada.

Estos nuevos indicadores tienen la limitante que solamente responden a efectos determinísticos, puesto que evalúan daños en sistemas de órganos. La

adquisición del equipamiento para la implementación de los mismos lleva implícita una inversión costosa tal como se muestra en la Tabla 2, y en el caso de la resonancia paramagnética no hay simplicidad en la toma de muestra.

La muestra empleada en los métodos 1 y 2 mencionados anteriormente es de plasma, y en el método 3 el material a analizar consiste en un raspado de dientes o uñas. También señalan útil el empleo del método de Resonancia Paramagnética electrónica en la cuantificación de dióxido de carbono, en forma radical combinado con el test de mutación de glucoporfirina A que se realiza por citometría de flujo.

Tabla 2. Costo de los análisis según Baklely¹¹.

Método	Permanencia del efecto radiacional	Muestra empleada.	Método de análisis	Costo
Acidos nucleicos	Aparece a las 24 horas y es útil, hasta el día 21.	1.5 mL de sangre heparinizada.	Espectrofotométrico	1 dólar.
Dosimetría citogenética.	Aparece a las 24 horas, en dependencia de la técnica empleada y la utilidad depende de la dosis de exposición.	3 mL de sangre heparinizada.	Citogenético	500-3000 dólares.
Conteo hematológico o Actividades enzimáticas.(TGO; TGP, amilasa, LDH, CK)	Aparecen a las 24 horas.	3 mL de sangre para el conteo hematológico y 1 mL de suero para las enzimas.	Contador hematológico, y espectrofotómetro.	Para ambos no es superior a 2 dólares.

Estos nuevos indicadores no cumplen con los requerimientos estratégicos del sistema nacional de salud que su primera tarea es la prevención, y el tema que nos ocupa pretende mejorar los exámenes médicos de control de salud que se le realiza sujetos sobre-expuestos, incorporando indicadores que puedan ser de utilidad para evaluar la radiosensibilidad y evitar las patologías referidas como consecuencia de exposiciones crónicas⁵⁶⁻⁵⁸.

Se seleccionó como indicador de biodosimetría molecular los ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica¹⁴, puesto que el material necesario³ (sangre total heparinizada), para esta técnica es fácilmente accesible, y cumple con los requerimientos de un buen dosímetro. El método emplea una técnica espectrofotométrica aplicable en laboratorios convencionales y por su simplicidad, es corto el tiempo requerido para realizar el análisis. Esta técnica requiere solamente de una muestra de sangre total heparinizada de 1,5 mL y el resultado de la determinación no excede las 2 horas. Las lecturas se realizan en la región ultra violeta UV, a 230 y 265 nm. El lavado de la sangre total se realiza con una solución de saponina, que se centrifuga y el paso final es la extracción de los ácidos nucleicos con ácido perclórico efectuándose las lecturas antes mencionadas contra un blanco que lo conforma la propia solución de ácido perclórico¹⁴.

El empleo de esta técnica por primera vez en el país requirió del estudio de valores de referencia en población sana^{16,20,22}, la validación de la clasificación de daño radioinducido, de correlación dosis respuesta en animales de

experimentación¹⁷⁻²¹ y en pacientes oncológicos sometidos a irradiaciones terapéuticas^{39-47,60}. Ambos modelos son válidos para estos fines por ser poseedores de las siguientes cualidades: la variación porcentual de los ácidos nucleicos^{14,22} en relación con el valor de base o rangos de referencias es el mismo en animales de experimentación y en humanos, resultando fácilmente extrapolables los resultados en ambas poblaciones.

El efecto biológico, provocado por la exposición radiacional, y medido por esta técnica se manifiesta en un periodo largo, teniendo variaciones en los días 1, 3, 7, 10, 14 y 21¹⁷⁻²⁰, desapareciendo el efecto en días posteriores. Este indicador es útil en todo tipo de transmisiones lineales de energía, con relación dosis-respuesta en rangos que van desde 0,1 Gy hasta dosis de 8 Gy, cualidad que lo hace útil tanto para evaluar efectos estocásticos como determinísticos. Además es útil el indicador en exposiciones agudas⁴¹⁻⁴⁷, en diferentes exposiciones crónicas^{54,55,61,62} y aplicables en sobreexposiciones accidentales³⁴⁻⁴⁰.

Los parámetros de estrés oxidativo, son potenciales indicadores evolutivos de la radiosensibilidad y respuesta adaptativa, mientras que la expresión de la concentración de ácidos nucleicos leucocitarios, instrumentos de detección de recuperación medular, indicadores de rápida implementación en la práctica hematológica y en la potencial evaluación para seguimiento de personas sobreexpuestas a radiaciones ionizantes, no ionizantes y de alta frecuencia⁴⁸⁻⁵².

Ocurrido un accidente radiológico, la dosimetría biológica conjuntamente con la biodosimetría molecular complementa las estimaciones dosimétricas realizadas por métodos físicos y en ciertos casos constituye la única evaluación posible.

Al presente, la cuantificación de aberraciones cromosómicas inestables (dicéntricos y anillos) es el método más ampliamente utilizado en dosimetría biológica para la evaluación dosimétrica inmediata de situaciones de presunta o confirmada sobreexposición aguda a todo o gran parte del cuerpo, por irradiación externa y/o contaminación interna con radionucleidos de distribución uniforme en el organismo tales como Cesio-137, pero tiene la limitante caracterizada porque su frecuencia decrece en el tiempo y los resultados además de ser muy demorados como se ha debatido anteriormente son muy costosos.

2.1.3. Carencia que se quiere llenar con la investigación

Disponer de una biodosimetría molecular validada que pueda aplicarse a situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes de fácil implementación en laboratorios clínicos convencionales.

Validación del daño biológico radioinducido aplicable a situaciones de sobreexposición a las radiaciones ionizantes

2.1.4. Determinación de los valores de referencia de la concentración de ácidos nucleicos leucocitarios en ratas Wistar

La radiación ionizante está en todas partes. Llega desde el espacio exterior en forma de rayos cósmicos. Está en el aire en forma de emisiones del radón radiactivo y su progenie. Los isótopos radiactivos que se originan de forma natural entran y permanecen en todos los seres vivos. Es inevitable. De hecho, todas las especies de este planeta han evolucionado en presencia de la radiación ionizante. Aunque los seres humanos expuestos a dosis pequeñas de radiación pueden no presentar de inmediato ningún efecto biológico aparente, no hay duda de que la radiación ionizante, cuando se administra en cantidades suficientes, puede causar daños. Para determinar los efectos nocivos que pueden causar las radiaciones ionizantes en el organismo humano, clasificarlo y protocolizar las medidas terapéuticas pertinentes es necesario realizar experimentos en animales con un amplio rango de dosis en condiciones que puedan extrapolarse a humanos^{14,17-23}. Teniendo en cuenta lo anterior se realiza el siguiente estudio de valores de referencia en ratas Wistar para evaluar posteriormente la respuesta radioinducida para diferentes rangos de dosis en estos animales⁶³⁻⁶⁶.

Universo

El universo de estudio quedó constituido por ratas Wistar machos producidas por el Centro de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB).

Criterios de inclusión

- Peso comprendido entre 170 y 220 g que garantiza la madurez en su desarrollo (ratas adultas).

Criterios de exclusión

- Ratas que no cumplan los criterios de inclusión.

Selección de la muestra

La muestra (n) quedó conformada por 100 ratas con peso corporal en el rango de 170 a 220 gramos. Las ratas fueron separadas aleatoriamente para formar 10 grupos de 10 animales por grupo. De estos grupos se seleccionó un grupo control no irradiado y el resto de los grupos se irradió con la siguiente secuencia de escalado de dosis: 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 Gy. Los valores reportados son el promedio de los todos los animales estudiados en cada grupo.

Método

Se realizaron dos experimentos: uno en invierno y otro en verano teniendo en cuenta reportes anteriores que muestran que las estaciones del año influyen en los resultados obtenidos¹⁹⁻²² en la determinación de los valores de referencia de concentración de los ácidos nucleicos en sangre periférica. Cada grupo de animales con excepción del grupo control fueron sometidos a irradiación corporal total en correspondencia con el escalado de dosis mencionado anteriormente. A

las 24 horas de la irradiación los animales fueron sacrificados para la toma de muestra de sangre total por duplicado.

Las muestras en heparina fueron refrigeradas hasta el momento de su análisis para la determinación de la concentración de los ácidos nucleicos leucocitarios mediante el método de Kryskii y Alexandrov¹⁴.

Se empleó el método estadístico de los Percentiles para establecer el rango de valor referencia en el grupo control. Este valor se utilizó para determinar el valor porcentual de la concentración de los ácidos nucleicos respecto a la referencia en los animales irradiados. Los resultados de cada experimento fueron evaluados independientemente.

Resultados

La Tabla 3 muestra los valores de la concentración de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica en los grupos controles (verano e invierno). De acuerdo con la prueba de Medias Pareadas, no existen diferencias significativas en los valores encontrados en los dos grupos controles, de tal manera que los resultados de ambos grupos se integraron para conformar la cifra de valores de referencia en ratas Wistar, obteniéndose como resultado el valor de $6,40 \pm 0,62$ mg/100 mL de sangre total.^{17-21,63-66}. El 100% quedó conformado por este valor de concentración de los ácidos nucleicos leucocitarios de los animales sin irradiar (grupos controles), el cual se empleó como valor de referencia para

determinar la variación porcentual de los ácidos nucleicos en los animales irradiados.

Tabla 3. Valores de referencia de la concentración de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica (ANLSP) en ratas en ambos experimentos.

Grupos Control	Rango de Valores mg/100 mL
	Promedio \pm DS
Verano	6,20 \pm 0,38
Invierno	6,40 \pm 0,17

En correspondencia con la prueba estadística de medias pareadas no se observan diferencias significativas en los resultados obtenidos en ambos experimentos. De acuerdo con lo anterior, se seleccionaron los resultados obtenidos en el experimento de invierno que muestra el mejor ajuste por el métodos estadístico de mínimos cuadrados con un coeficiente de regresión de $r=0,9736$ ¹⁷⁻²¹, ver Figura 3. Los datos se ajustaron a la expresión siguiente:

$$y = a - b \log D \quad (1)$$

donde " $a = 54.84$ " es el intercepto en el eje de las ordenadas, " $b = -45.91$ " la pendiente de la curva, " D " es la dosis, " y " representa la concentración de ácidos nucleicos leucocitarios expresada en porciento.

La Tabla 4 muestra el valor porcentual de la concentración de ácidos nucleicos en sangre periférica a diferentes dosis de irradiación corporal a las 24 horas post-irradiación.

Tabla 4. Variación de la concentración de los ácidos nucleicos a diferentes dosis de irradiación corporal total gamma aguda en ambos experimentos.

Dosis (Gy)	Verano	Invierno
	% ácidos nucleicos	% ácidos nucleicos
0.00 (Control)	100	100
0.10	91	96
0.25	80	86
0.50	71	72
1.00	55	51
2.00	46	44
3.00	36	40
4.00	29	24
5.00	30	26
6.00	26	14

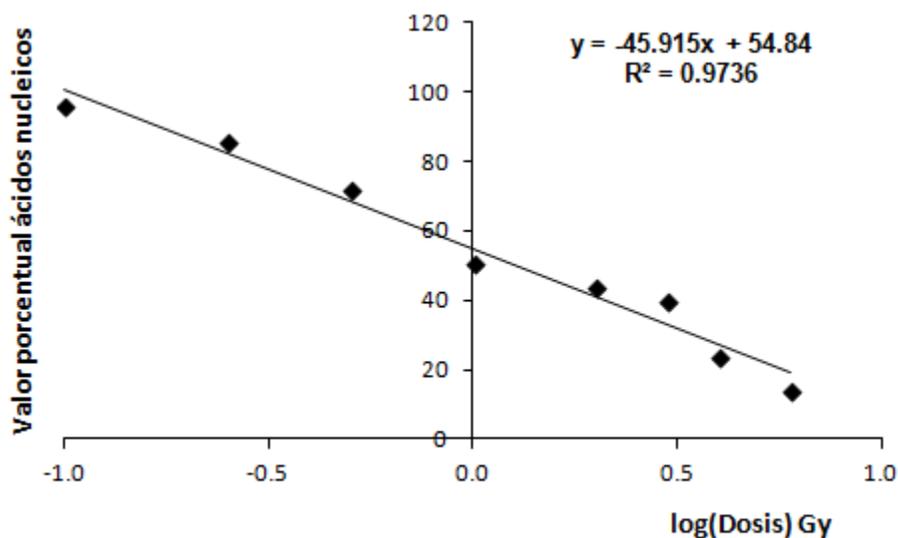


Figura 3. Relación dosis-efecto en animales de experimentación sometidos a irradiación gamma aguda.

Discusión

El valor de referencia de concentración de ácidos nucleicos obtenido en nuestros experimentos fue comparado con los obtenidos por Minkova y Tenchova¹⁷⁻²¹ en diferentes estaciones del año mediante la prueba estadística de medias pareadas que mostraron diferencias significativas de estos valores para tres estaciones del año, no observándose diferencias únicamente con el resultado correspondiente al verano^{23,25,63,64}.

Como puede apreciarse en la Tabla 4, con el aumento de la dosis disminuye la concentración porcentual de los ácidos nucleicos. Similarmente, estos resultados fueron comparados con los obtenidos por los autores Minkova y Tenchova¹⁷⁻¹⁹, mediante un análisis de varianza de dos vías (diseño factorial), que evidenció

que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las curvas dosis-efecto de irradiación gamma obtenida en el Instituto de Bulgaria, y la realizada en el gammatron Rokus del Instituto de Oncología y Radiobiología^{17,20,63}. Estos resultados muestran que la disminución porcentual de los ácidos nucleicos respecto a la dosis en los animales irradiados muestra un comportamiento reiterativo frente a otras investigaciones realizada por otros autores¹⁸⁻²¹, lo cual permitió arribar a conclusiones importantes para la clasificación del daño inducido por las radiaciones ionizantes. De acuerdo con lo anterior, se estableció que el daño ligero ocurre cuando la disminución porcentual de los ácidos nucleicos leucocitarios se encuentra entre el 10 - 50% y corresponde a dosis menores de 1Gy, el moderado que se corresponde con una disminución entre 50 – 80% para valores de dosis entre 1 – 4 Gy, el severo que corresponde a una disminución porcentual mayor del 80% para dosis mayores de 4Gy. Estos resultados se corresponden con las tendencias actuales protocolizadas en los Manuales de Asistencia a radioaccidentados y documentada en la reunión final de coordinadores del Proyecto RLA /9/03/XXXVII^{39,40}.

La Figura 4 muestra la clasificación del daño radioinducido obtenida a partir de los animales irradiados en nuestros experimentos. Esta gráfica permite estimar los rangos de los sobreexposados accidentalmente mediante la disminución que porcentual del parámetro.

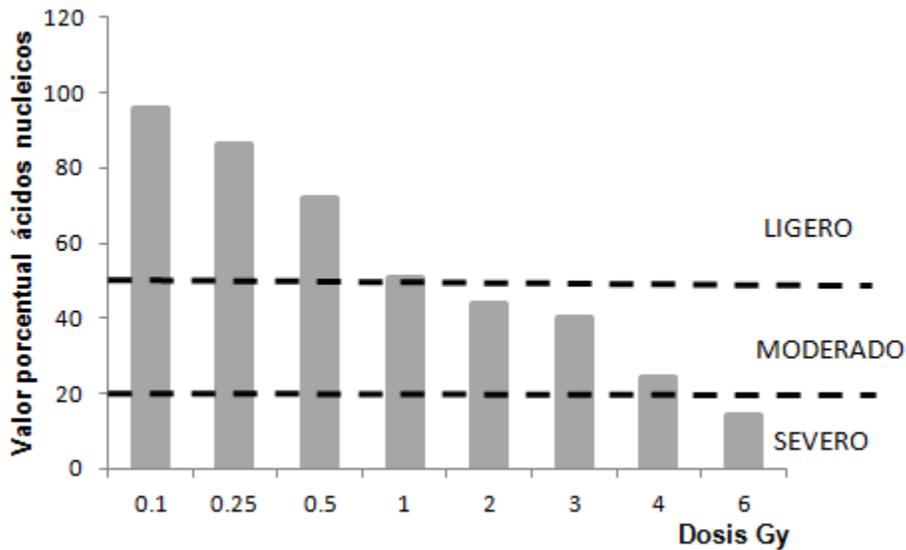


Figura 4. Clasificación de daños en relación a la cuantificación porcentual de ácidos nucleicos.

Cuando esta disminución esté con respecto al valor basal o de referencia entre un 10% y un 50 %, podemos decir que la dosis recibida provocó daños ligeros, menores de 1 Gy, si por el contrario los porcentos de disminución están comprendidos en rangos de 49% al 30% los rangos de dosis de exposición deben estar comprendidos en rangos mayores de 1Gy y hasta 4 Gy debiéndose tomar las medidas protocolizadas para daños moderados y la clasificación es de daños severos cuando la pérdida de porcentual de los ácidos nucleicos es mayor del 80 %.

Este es uno de los aportes mas importante de esta investigación porque de ella se deriva la utilización de esta técnica para evaluar sujetos que han sufrido exposiciones accidentales³⁴⁻⁴⁰ a las radiaciones ionizantes, a diferencia de otros

autores, que emplearon los resultados obtenidos con esta técnica para evaluar sustancias radioprotectoras^{14,17-22}.

2.1.5. Dinámica variacional de los ácidos nucleicos leucocitarios posterior a la irradiación

Para evaluar la respuesta radioinducida durante todo el tiempo en que el daño se manifiesta (generalmente 21 días después de la irradiación) deben realizarse estudios de la dinámica variacional de los los ácidos nucleicos leucocitarios. Para ello se realizó el siguiente ensayo con ratas Wistar con el mismo escalado de dosis empleado en el estudio dosis-respuesta a las 24 horas post-irradiación^{14,17-22}.

Universo

El universo de estudio quedó constituido por ratas Wistar machos producidas por el Centro de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB).

Criterios de inclusión

- Peso comprendido entre 170 y 220 g que garantiza la madurez en su desarrollo (ratas adultas)

Criterios de exclusión

- Ratas que no cumplan los criterios de inclusión

Selección de la muestra

Los animales para cada una de las dosis estudiadas fueron sacrificados los días 1, 3, 7 10, 17, 21,24, 27 y 30

La muestra (n) quedó conformada por 700 ratas con peso corporal en el rango de 170 a 220 gramos. Las ratas fueron separadas aleatoriamente para formar 7 grupos de 100 animales por grupo. De cada uno de estos 7 grupos se seleccionó un grupo control no irradiado integrado por 10 animales y con el resto se formó otro grupo de 90 animales, los cuales fueron sometidos a una dosis de radiación única en dependencia del grupo al que pertenecieran.

Método

Aleatoriamente se seleccionó uno de los 7 grupos de 100 animales para irradiarlos con una dosis única. Los animales irradiados de cada grupo se sacrificaron aleatoriamente de 10 en 10 los días 1, 3, 7, 10, 17, 21, 24, 27 y 30 para la toma de muestra de sangre total por duplicado. Este experimento se repitió de la misma manera para los 6 grupos restantes, teniendo en cuenta el siguiente escalado de dosis: 0.10, 0.25, 0.50, 1,00, 2,00, 3,00, 4,00, 5,00 y 6,00 Gy.

Las muestras en heparina fueron refrigeradas hasta el momento de su análisis para la determinación de la concentración de los ácidos nucleicos leucocitarios mediante el método de Kryskii y Alexandrov¹⁴.

Se empleó el método estadístico de los Percentiles para establecer el rango de valor referencia en los controles de cada uno de los 7 grupos de animales. Este valor se empleó para determinar el valor porcentual de la concentración de los ácidos nucleicos respecto a la referencia en los animales irradiados. Los resultados de cada experimento fueron evaluados independientemente.

Resultados

Los resultados de estos experimentos se muestran en la Figuras 5 donde puede observarse la variación temporal del valor porcentual de los ácidos nucleicos a niveles de dosis no letales y en la Figura 6 se muestra la variación temporal del valor porcentual de los ácidos nucleicos a niveles de dosis letales.

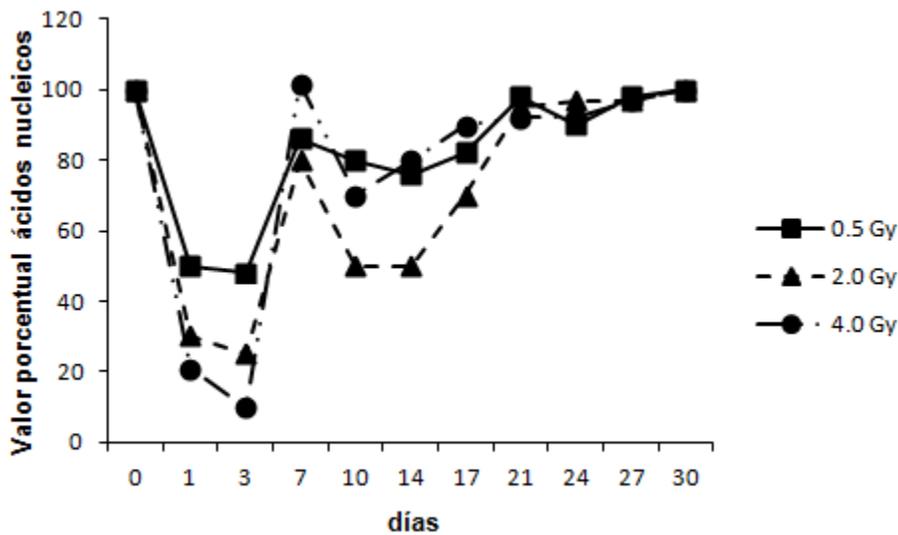


Figura 5. Estudio de la respuesta temporal de la concentración de los ácidos nucleicos a dosis de 0.5, 2,0, y 4,0 Gy, en 30 días

Numerosos estudios han señalado a la producción de radicales libres como el principal mecanismo indirecto de daño radioinducido con baja transferencia lineal de energía (TLE) en sistemas biológicos^{50,54,55}. El estrés oxidativo, se produce como la ruptura del equilibrio entre la generación de especies reactivas y la capacidad neutralizante de los sistemas antioxidantes, que pueden ser

formados por mecanismos de acción directa o indirecta de las radiaciones ionizantes.^{23,24,38,39}

Este estado definido como el aumento de la concentración estacionaria de especies reactivas, aparece en aquellos animales sometidos a irradiación corporal total a altas dosis y se expresa como un incremento pronunciado de ERO (especies reactivas del oxígeno) y lipoperóxidos (LP) durante los primeros días posteriores a la irradiación y con un incremento tardío de las condiciones defensivas sistémicas antioxidantes^{44,45,60}.

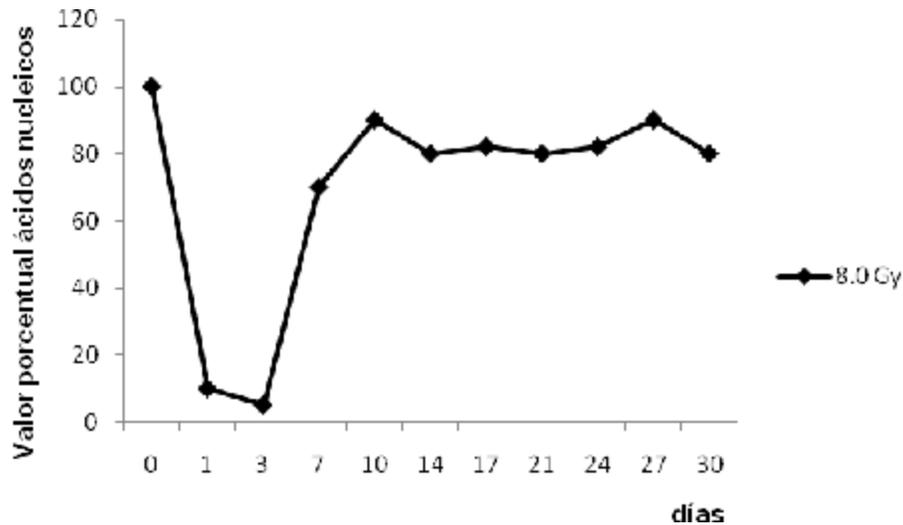


Figura 6. Estudio de la respuesta temporal de la concentración de los ácidos nucleicos a la dosis letal de 8 Gy.

Discusión

La observación del comportamiento de la dinámica variacional en los estudios realizados se aprecia que a las 72 horas aparece la disminución porcentual más

marcada de los ácidos nucleicos y en caso de los animales que sobreviven se alcanza el valor más alto de toda la dinámica temporal entre los 7 y 10 días posteriores a la irradiación, incluso puede llegar a ser mayor que los valores mostrados por los controles. A este punto se le llama pico abortivo y desde el punto de vista clínico representa un indicador temprano de recuperación del daño ocasionado por la exposición radiacional. Debido a esto, la presencia de este punto en la dinámica variacional tanto para dosis no letales, moderadas y severas es un indicador del pronóstico de la evolución favorable después de una exposición aguda a las radiaciones ionizantes^{18,21-25}. Este indicador de recuperación aparece antes que los indicadores hematológicos y bioquímicos convencionales alcancen la normalidad. Debido a que la variación porcentual de los ácidos nucleicos es extrapolable a humanos^{18-24,27,31,36}, es posible aplicar estos resultados a sujetos sometidos a exposiciones agudas a las radiaciones ionizantes.

La magnitud del daño dependerá del tipo de radiación, de su energía, de la dosis absorbida y del tiempo de exposición. Como en cualquier otro tipo de lesión, este daño orgánico en ciertos casos puede recuperarse. Esto dependerá de la severidad del daño, del tipo de tejido afectado y del poder de recuperación del individuo.

En su posible recuperación, la edad y el estado general de salud del individuo son factores importantes, ya que estos influyen de manera decisiva en la capacidad de respuesta antioxidante^{2,24,16,60}.

En casi cien años de uso de las radiaciones, ha sido posible observar la respuesta de diferentes organismos sometidos a tratamiento médico, o sujetos que han tenido accidentes con radiaciones, lo cual ha proporcionado elementos para prevenir futuros riesgos convencionales.

2.1.6. Determinación de los rangos de referencia de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica (ANLSP) en la población cubana

Debido a que no es posible someter a sujetos sanos a estudios de sobreexposición con radiaciones, es necesario combinar los estudios de disminución porcentual de los ácidos nucleicos y su dinámica variacional realizados en animales de experimentación con el valor de referencia de la población sana para poder aplicar los criterios de daño radiacional a sujetos sobreexpuestos. Se ha recomendado por la OMS²² realizar estudios en sujetos sanos para regiones geográficas diferentes debido a que la exposición ambiental varía en dependencia de la zona geográfica, lo cual pudiera introducir variaciones en los rangos de normalidad. Por esta razón se justifica realizar el siguiente estudio en sujetos sanos de la población cubana^{11,22,23,67}.

Universo

El universo de este estudio quedó constituido por sujetos sanos, con igual régimen de alimentación, descanso y ejercicio físico de acuerdo a la edad.

Criterios de inclusión

- Sujetos sanos por criterio clínico-humoral
- Firma de acta del consentimiento informado para el estudio

Criterios de exclusión

- Sujetos no sanos por criterio clínico-humoral

Selección de la muestra

La muestra quedó conformada por 405 individuos sanos que fueron divididos en 2 grupos de edades, teniendo en cuenta que el envejecimiento y los cambios de estilos de vida asociados a la edad disminuyen la capacidad de defensa antioxidante, lo cual pudiera influir en los resultados referenciales que se obtendrían de estos individuos sanos²⁴:

Grupo I: Sujetos comprendidos entre 16 y 23 años de edad

Grupo II: Sujetos comprendidos entre 45 y 55 años de edad

Método

Los sujetos seleccionados se les realizó una batería diagnóstica en los laboratorios del Hospital Hermanos Ameijeiras en equipo multianalizador Hitachi 704 que incluía exámenes bioquímicos de glucosa, creatinina, transaminasas, fosfatasa alcalina, creatinina, urea, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, además de la hematología básica, realizada en un contador celular automatizado de la

Roche, para verificar que clínicamente eran sanos, y sus valores estaban dentro de los valores de referencia.

El método estadístico empleado para determinar los rangos de referencia de los ácidos nucleicos fue el de los percentiles.

Resultados

La Tabla 5 muestra los valores de referencia de los ácidos nucleicos obtenidos en la población estudiada.

Tabla 5. Valores de referencia de ácidos nucleicos en población cubana estudiada.

<i>Rango de Edad</i>	<i>Valor de referencia</i>
16-23 años	2,16 - 5,65 mg/100 mL de sangre total
45-55 años	1,64 - 4,02 mg/100 mL de sangre total

La prueba t de comparación de medias fue empleada para evaluar si existían diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos. El resultado de esta prueba arrojó una $p \leq 0,05$, que muestra que no existen diferencias significativas con una distribución normal en ambos grupos, por lo que se pudo unificar los resultados en uno solo. De esta manera el valor de referencia de concentración de ácidos nucleicos obtenido en la población estudiada fue de 2,34 - 5,65 mg/100 mL de sangre total.

Discusión

Debido a que por primera vez se aplica en nuestro país una técnica radiobiológica para la determinación de ácidos nucleicos, se hizo necesaria la determinación de los valores de referencia de la concentración de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica en sujetos sanos con criterios clínicos humorales. Se siguió la recomendación de Violeta Tenchova^{20, 22-24} de estudiar solamente hombres para que la variable objeto de estudio no presentara variaciones debidas a cambios hormonales, como ocurre en el sexo femenino y además se escogieron sujetos con igual régimen de ejercicio físico y alimentación, que garantizan la homogeneidad en la muestra por el régimen de vida a que están sometidos.

Estudiamos diferentes grupos etéreos, porque el envejecimiento debilita la respuesta antioxidante y los estilos de vida en los grupos de edades escogidos cambian con la edad, pero tal como señalan los autores de Violeta Tenchova y Minkova M, y Krittskii y Alexandrov^{14,17-21} los valores no se afectan con la edad, tal como evidenció la prueba estadística aplicada.

En este estudio realizado en población sana se encontraron valores similares a los reportados por Minkova M y Tenchova B¹⁷⁻²¹ que estudiaron sujetos que viven en zonas geográficas con diferentes condiciones a las nuestras.

Se realizó un análisis de regresión múltiple selectiva entre las variables objeto de estudio y el resto de las variables bioquímicas y hematológicas estudiadas

que mostró que no existían dependencia entre ninguna de ellas y los ácidos nucleicos, lo cual confirma su utilidad con fines radiobiológicos^{2-3,10,11,22}.

La cifra de ácidos nucleicos en leucocitos de sangre periférica en nuestra población quedó definida en el rango, de 2,34 - 5,65 mg/100 mL de sangre total, y sirvió de referencia para ser aplicada en las evaluaciones médicas a sujetos sobre-expuestos³⁷⁻⁴⁰, proponiéndose este indicador como dosímetro biológico de respuesta rápida a emplear en nuestro país. Este indicador, se seleccionó como referencia en América Latina siendo incluido en el manual de radioaccidentados de la región³⁹.

2.1.7. Conclusiones parciales

1. No se observaron diferencias significativas en los resultados experimentales realizados en ratas Wister en las épocas del año correspondiente a verano e invierno en nuestro país.
2. Los resultados de disminución porcentual de los ácidos nucleicos muestra una tendencia reiterativa similar a la obtenida en otras investigaciones que permite la clasificación del daño radioinducido en correspondencia las tendencias actuales protocolizadas en el manual de radioaccidentados.
3. Los experimentos realizados en la evaluación del comportamiento de la dinámica variacional de los ácidos nucleicos en los animales que sobreviven a una irradiación aguda muestran una marcada recuperación de sus valores entre los 7 y 10 días.

4. El rango de los ácidos nucleicos obtenido en población cubana puede ser empleado como referencia para la estimación del daño biológico en sujetos sobre-expuestos.

Valor de los ácidos nucleicos leucocitarios en situaciones de exposición accidental

2.1.8. Síndrome agudo. Trasplante de médula

El síndrome agudo por radiación (SAR) se encuentra categorizado en diferentes cuadros que pueden poner en riesgo la vida de las personas sobreexpuestas a radiaciones ionizantes. Si bien cada síndrome presenta una clínica diferenciada, dos hechos resultan constantes e interrelacionados: la afectación del sistema hematopoyético y el compromiso sistémico. La secuencia de eventos asociados al SAR plantea importantes desafíos en los aspectos pronósticos y evolutivos. En el estudio de la dinámica de ácidos nucleicos mostrada en el capítulo anterior se observó que los animales de experimentación sometidos a dosis letales, mostraron la existencia de un pico abortivo entre el 7^{mo} y 10^{mo} día posterior a la irradiación en los animales que sobrevivían, lo cual fue considerado como un indicador temprano de recuperación del daño causado por las radiaciones⁷⁰⁻⁷⁸. Este resultado abre la posibilidad de utilizar este parámetro como un indicador de recuperación en seres humanos sometidos a altas dosis de radiación en situaciones accidentales o de otra índole. Para evaluar el valor pronóstico de los

ácidos nucleicos leucocitarios en el síndrome agudo por radiación (SAR) en humanos, se realizó el siguiente ensayo empleando un modelo de irradiación corporal total (TBI) en pacientes sometidos a trasplante de médula ósea (TMO)

32-47.

Universo

El universo en este estudio quedó constituido por todos los pacientes del Servicio de Hematología del hospital Clínico Quirúrgico “Hnos. Ameijeiras”, seleccionados según protocolo del propio hospital para efectuársele el trasplante de medula ósea (TMO).

Criterios de inclusión

Pacientes aprobados por el equipo de Hematología del Hospital “Hermanos Ameijeiras” para ser sometidos a trasplante de la médula ósea que firmaran consentimiento informado.

Criterios de exclusión

Los pacientes que por determinadas razones no se les pueda realizar el proceder de trasplante de médula ósea (incompatibilidad genética, descompensación hematológica, etc.).

Selección de la muestra

Se seleccionaron 30 pacientes del servicio de Hematología del Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras” que fueron sometidos a irradiación corporal

total para trasplante de médula ósea (TMO). Las edades oscilaron entre 18 y 56 años y el 60 % del total pertenece al sexo masculino. La Tabla 6 muestra las características principales de los pacientes y los diagnósticos. Cinco de los trasplantes fueron alogénicos y 25 autólogos.

Método

Las muestras se tomaron de las extracciones que se le realizaron al paciente para su control hematológico rutinario. Se consideró como 0 el día del trasplante. El valor de base de los ácidos nucleicos se tomó entre los días -2, -3, y se tomaron muestras sistemáticamente los días +1,+2,+3,+4,...etc., hasta el alta de los pacientes que se producía alrededor de los días +30.

Los parámetros que se analizaron en cada extracción fueron: hemograma con diferencial, ácidos nucleicos, glicemia, transaminasa oxaloacética (TGO) y la transaminasa oxalopirúvica (TGP), amilasa, fosfatasa alcalina, creatina fosfokinasa, proteínas totales, lípidos, manosaldehído plasmático (MAD, o TBARS) y las hormonas T3, T4 y TSH. El valor porcentual de los ácidos nucleicos se determinó por el método de Krittskii y Alexandrov¹⁴.

La glicemia se dosificó por el método de la glucosa oxidasa en un analizador automático Hitachi704, y las demás variables por los micro-métodos colorimétricos en el mismo analizador. El hemograma se realizó en un contador celular automático KX 21 y los diferenciales por microscopía.

Resultados

Los resultados se incluyeron en una base de datos cuyo registro facilita el análisis estadístico de Spearman, que permite clasificar los datos según la homogeneidad de las variables (para las homogéneas los gráficos punto a punto y para las muy dispersas los de tendencias). Para la mejor comprensión de los resultados se emplearon las variables explicativas siguientes: edad, peso, raza, sexo y diagnóstico. Estos datos se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Características físicas y diagnósticos de los casos a los que se les realizaron el TMO y fueron incluidos en el estudio.

Paciente	Edad	Peso(kg)	Sexo/Raza	Diagnóstico
1	29	72	F/B*	Leucemia mieloide aguda variedad M3.
2	45	64	M/M**	Leucemia mieloide crónica.
3	18	54	M/N***	Leucemia mieloide aguda variedad M4.
4	30	76,3	M/B	Leucemia mieloide aguda.
5	27	70	M/B	Enfermedad de Hodking estadio (II B E)
6	27	49,5	F/B	Leucemia mieloide aguda variedad M4.
7	34	77,8	M/B	Leucemia mieloide crónica
8	18	48,5	F/B	Linfoma no Hodking.
9	50	83	M/B	Leucemia mieloide aguda variedad M2.
10	26	53,5	F/B	Leucemia no Hodking alto grado estadio II A Tipo Bulky.
11	30	49	F/B	Enfermedad de Hodking variedad mixta.
12	18	52,5	F/B	Linfoma no Hodking estadio IV -B

13	30	78,1	M/B	Linfoma no Hodking.
14	40	76	M/B	Linfoma no Hodking alto grado estadio IV.
15	30	76,8	F/B	Leucemia mieloide aguda.
16	20	49,5	M/B	Leucemia mieloide aguda variedad M4
17	56	53,6	F/B	Linfoma no Hodking alto grado estadio II A.
18	50	83	M/B	Leucemia mieloide crónica.
19	50	83	M/B	Leucemia mieloide aguda variedad M2
20	25	68	M/M	Leucemia mieloide aguda.
21	40	66,6	F/B	Leucemia mieloide crónica.
22	19	44	M/B	Linfoma no Hodking alto grado
23	28	60	F/B	Leucemia promielítica aguda.
24	36	70	F/M	Linfoma no Hodking alto grado
25	23	45	F/B	Enfermedad de Hodking.
26	27	86	M/B	Leucemia promielítica aguda.
27	21	48,3	M/B	Linfoma no Hodking
28	34	54,9	M/B	Leucemia mieloide aguda
29	34	59,9	M/B	Linfoma no Hodking linfoblástica
30	18	52,5	M/B	Linfoma no Hodking linfoblástica.

Leyenda:

*B =Blanco, **M =Mestizo, ***N=Negro

El tratamiento condicionante antes del trasplante incluyó en síntesis el suministro de citostáticos y la aplicación de dos o tres fracciones de radiación que en conjunto sumaban 10/10,5Gy, aplicadas de cúbito lateral con bloqueo de pulmón. En los TMO autólogos el número de fracciones fue 2 y en los alogénicos

3. Se utilizó una fuente de Co-60 con una tasa de dosis de 0,08 Gy/min. Los detalles de las variables explicativas para este proceder se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Tratamiento previo y posterior al trasplante.

Paciente	Dosis Total (Gy)	Número de fracciones	Dosis por fracción (Gy)	Tratamientos con citostáticos	
				Previo al TMO	Posterior al TMO
1	10	2	5, 1	C.F* 5 mg-g.	No
2	10	2	5	CF y VP-16	No
3			NR**	C.F	No
4	10	3	3,3,4	CF y VP-16**	No
5	10	2	4,6	CF y VP-16	Ciclos A y Metrotex**
6	10	2	4,6	C.F	No
7			NR	C.F	
8	10	2	4, 6	CF y VP-16	No
9	10	2	5, 5	C.F	No
10	10	2	4, 6	C.F	No
11	10	2	4, 6	C.F	No
12	10	2	4, 6	C.F	No
13	10	3	3, 3, 4	C.F	Ciclos A y Metrotex
14	10	2	4,6	C.F	No
15	10	2	4, 6	C.F	No
16	10	2	4, 6	C.F	No
17	10	2	4, 6	C.F y VP 16	No
18	10	2	4,6	C.F	No

19	10	2	4,6	C.F	No.
20	10	2	4,6	C.F	No.
21	10	2	4,6	C.F	No
22	10	2	4,6	C.F	No
23			NR	C.F	
24	10	3	3, 3, 4	C.F y VP 16	Ciclos A y metrotex.
25	10	2	4, 6	C.F	No.
26	10	3	3, 3, 4	C.F y VP 16	Ciclos A y metrotex.
27	10	2	4, 6	C.F	No
28	10	3	3, 3, 4	C.F	Ciclos A y metrotex.
29	10	2	4, 6	C.F	No
30	10	2	4, 6	C.F	Ciclos A y metrotex.

Leyenda:

* CF: Ciclofosfamida

** NR: No radioterapia

**** Ciclos A y Metrotex: Citostático e inmunomodulador

**** VP 16: Citostático sin otro nombre comercial

Los resultados obtenidos en los casos estudiados muestran comportamientos diferentes en las dinámicas variacionales de los ácidos nucleicos y de los leucocitos en los pacientes que muestran una recuperación satisfactoria al trasplante y los que no muestran una recuperación satisfactoria.

En los casos con una recuperación satisfactoria, se observa la presencia de un pico abortivo entre los días 10 – 15 días posteriores al trasplante, este pico no va acompañado de un aumento significativo del número de leucocitos, que muestra una tendencia discreta al aumento sostenido en el tiempo, logrando acercarse al valor de base entre los 20 y 30 días posteriores al trasplante. La Figura 7 muestra un ejemplo de la dinámica variacional observada en un paciente que sobrevivió a un trasplante alogénico.

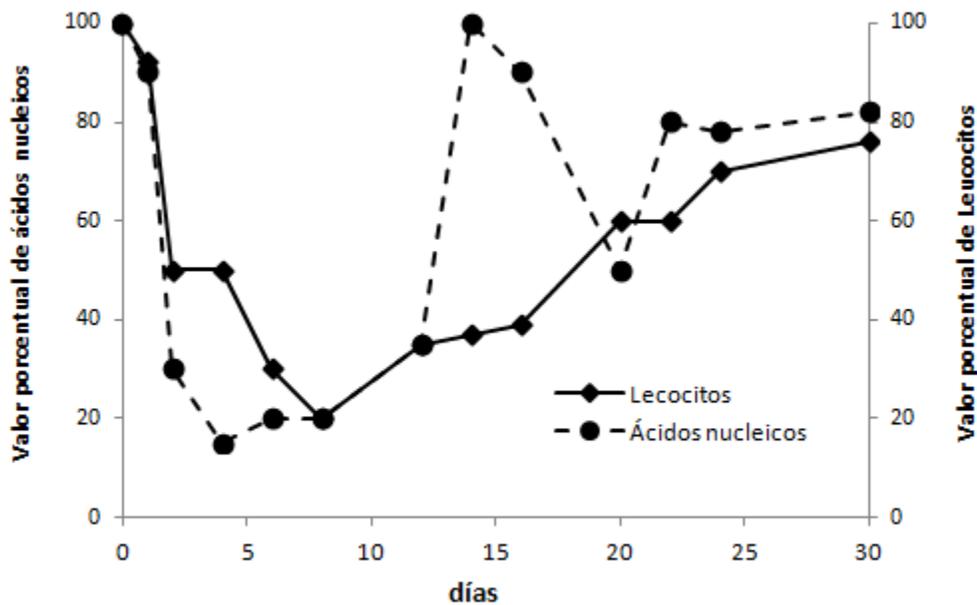


Figura 7. Dinámica variacional de los ácidos nucleicos y los leucocitos en un sujeto sometido a trasplante alogénico que sobrevivió al procedimiento.

En los casos que no se recuperan del trasplante de médula ósea, este pico abortivo está ausente, con un comportamiento oscilante en la dinámica

variacional de los leucocitos. En estos casos nunca se alcanzan el 50% del valor de base de los leucocitos tal como se muestra en la Figura 9.

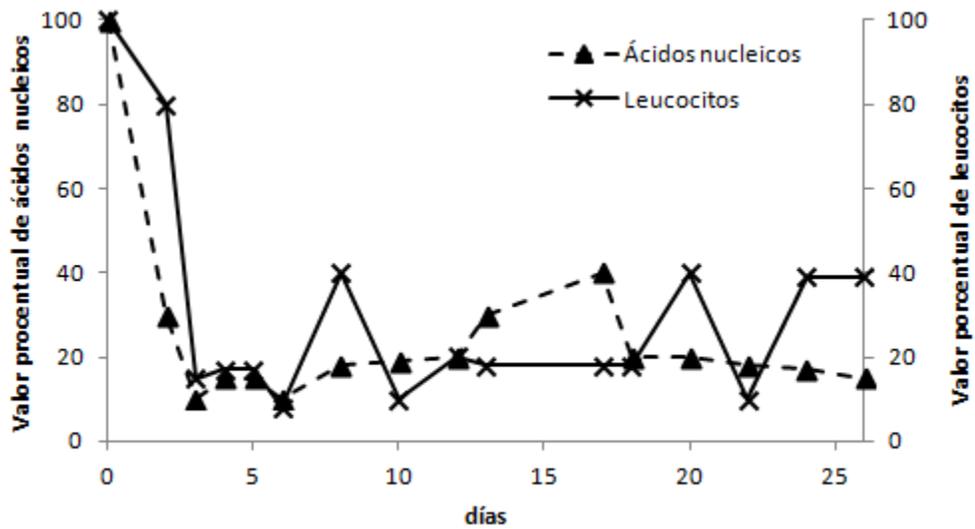


Figura 8. Dinámica variacional de ácidos nucleicos y los leucocitos en un fallecido sometido a trasplante alogénico de médula ósea.

En la Figura 9 se promedia el valor porcentual de los ácidos nucleicos correspondientes a los días posteriores al trasplante en los fallecidos y en los que sobreviven. La curva muestra que las tendencias en ambos grupos tienen pendientes con signos contrarios.

Este comportamiento variacional de los ácidos nucleicos es independiente del tipo de trasplante aplicado y solamente se correlaciona con la evolución observada.

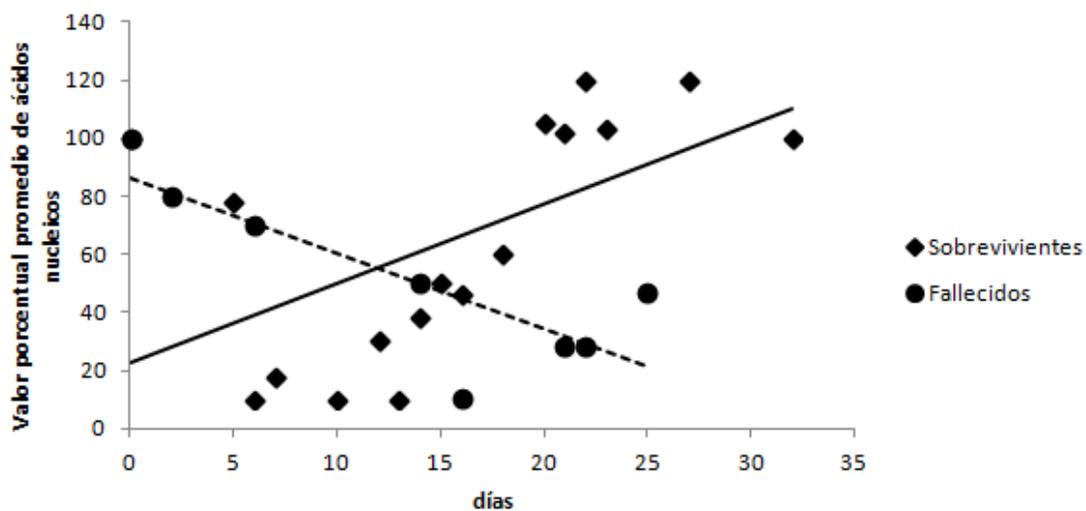


Figura 9. Tendencia promedio de los ácidos nucleicos en la muestra estudiada incluyendo ambos tipos de trasplantes

Discusión

El trasplante de médula ósea (TMO) es un procedimiento que ha logrado, bajo ciertas condiciones, un cambio en la historia natural de la enfermedad hematológica maligna y los regímenes condicionantes para TMO generan mielotoxicidad a través de diferentes mecanismos de acción.

En este trabajo se estudia por primera vez la dinámica variacional de los ácidos nucleicos en 30 pacientes que recibieron altas dosis de radiación como tratamiento condicionante para el TMO. Los resultados obtenidos de la dinámica variacional de este indicador muestran una tendencia marcada y reiterativa en

los casos que sobreviven al procedimiento, observándose un pico abortivo entre el 10mo y 15vo día, que nunca aparece en los casos que no sobreviven al proceder. Este pico abortivo aparece antes de que observe restablecimiento de los valores hematológicos y bioquímicos convencionales dando un pronóstico favorable aún cuando el pronóstico clínico convencional es reservado.

Similarmente a lo reportado por los autores Alonso C.⁴⁷ y Dubner D.⁶⁰, nuestros resultados muestran que el indicador de ANLSP, de igual tendencia evolutiva que el índice de madurez reticulocitaria, puede ser considerado un parámetro de refuncionalización medular que se eleva tempranamente después de la aplasia radioinducida, permitiendo detectar el momento de la refuncionalización medular (“engraftmen”). El pico abortivo de los ANLSP, pudiera ser considerado como indicador de la reactivación hematopoyética total^{39,42,45}.

Como se puede constatar en la Figura 7 aparece el pico abortivo de los ácidos nucleicos entre los días 10 y 15 que pronostica una evolución favorable tanto al SAR como al TMO, estos incrementos aparecen antes de la recuperación hematológica y la estabilización del resto de los parámetros. Sin embargo en la Figura 8 no aparece un incremento significativo del parámetro que pronostica una evolución no favorable.

Como se muestra en la Figura 8, en los casos de fallecimiento la aplasia medular radioinducida no es superada en días siguientes al proceder por lo que no hay una subida del parámetro simbolizando la mala evolución de estos

pacientes, mientras que en los que sobreviven siempre aparece la subida de los ácidos nucleicos después del 10mo día.

Los resultados experimentales obtenidos muestran que la variación porcentual de los ácidos nucleicos es un indicador temprano de la recuperación del organismo de los efectos de las radiaciones ionizantes y que puede emplearse como valor pronóstico en situaciones accidentales de sobre-exposición.

El MDA es un compuesto aldehídico que permite medir el nivel de oxidación en el que se encuentran los lípidos de la membrana, mientras mayor sea este valor mayor será el grado de afectación de esta, entendiéndose esto por un aumento en la peroxidación lipídica producido por la no activación de los sistemas de respuesta antioxidante, por lo que ocurre la desestabilización de las membranas biológicas y de sus componentes. El estadio en el cual el organismo es incapaz de estimular sus sistemas antioxidantes con el fin de eliminar los radicales libres circulantes en exceso, y estos afectan células, órganos e incluso sistemas, se ha dado en llamar *estrés oxidativo*. Este término es actualmente muy utilizado en clínica para identificar un conjunto de síntomas comunes a enfermedades muy diferentes, que comprenden casi siempre el desplazamiento del metabolismo hacia la hipercatabolia, acumulación de compuestos dañinos derivados de la peroxidación lipídica, y con estos la activación de otros como las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, que son capaces por sí solos de continuar y amplificar esta cascada de peroxidación y ocasionar daños irreparables, incrementar la aterosclerosis, y acelerar los procesos de

envejecimiento tisular^{46,47}. En correspondencia con lo anteriormente expuesto se observa que en los fallecidos el incremento de las especies reactivas se mantiene estable en tiempo contribuyendo al deterioro de la salud del paciente por la acumulación de estos compuestos dañinos que no son neutralizados por las defensas antioxidantes. La Figura 10 muestra en el caso de un fallecido el incremento de las especies reactivas se mantiene de manera sostenida mientras que en los casos de evolución favorable el incremento es mucho menor con tendencia a alcanzar sus valores de base.

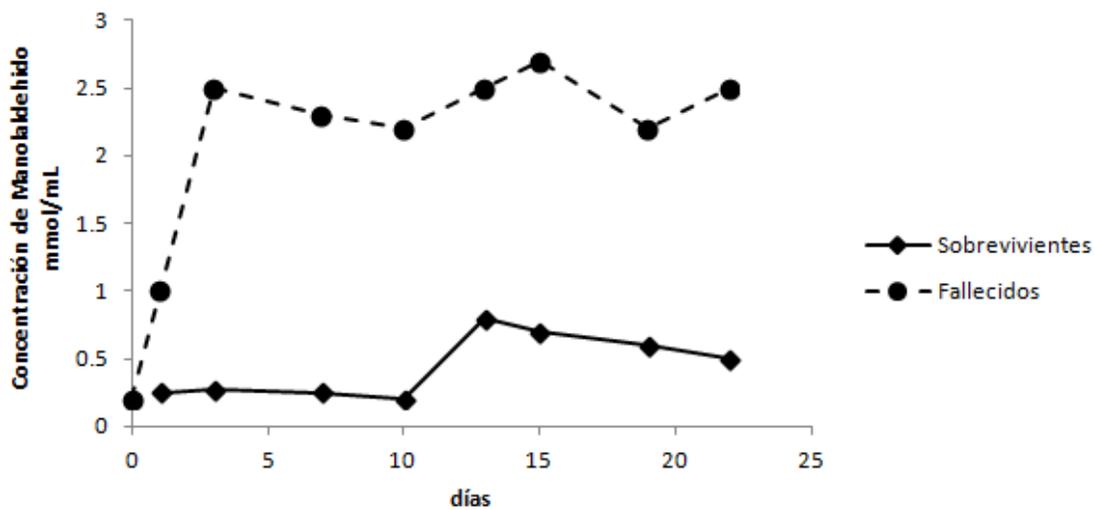


Figura 10 Valores de malonaldehído (TBARS o radicales libres) comparando un sobreviviente y un fallecido

Como puede apreciarse en la Figura 11, durante los 10 días posteriores a la irradiación corporal total se observa un aumento de la concentración

estacionaria de especies reactivas, que se expresa en un incremento pronunciado de ERO (especies reactivas del oxígeno) que tiende a estabilizarse en el tiempo acercándose a su valor de base, mientras los ácidos nucleicos después de su caída brusca por la aplasia medular radioinducida aparece la recuperación del parámetro a sus valores de basales^{24,44,60}.

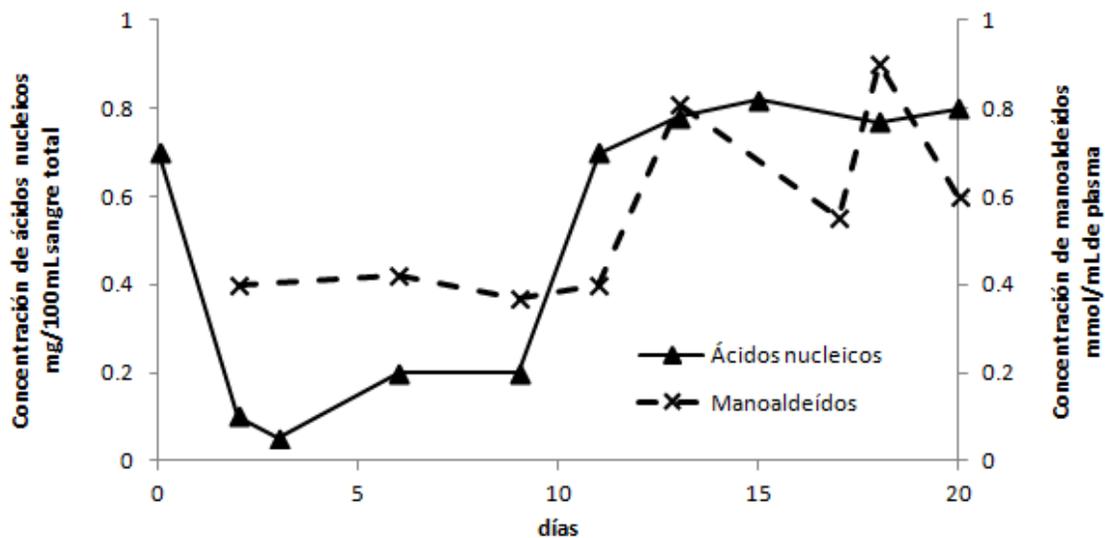


Figura 11. Valores de malonaldeído (TBARS o radicales libres) y ácidos nucleicos en un sobreviviente.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la irradiación corporal total produce un incremento de las especies reactivas del oxígeno y de los radicales libres como resultado de la acción de las radiaciones ionizantes sobre la materia viva que en los casos de fallecimiento este daño se torna irreversible mientras que en los que sobreviven hay una recuperación debido a la acción de las defensas antioxidantes que permite el restablecimiento de los niveles de base de los

ácidos nucleicos indicando la refuncionalización medular por lo que la dinámica del estrés oxidativo puede considerarse como una importante herramienta evolutiva en pacientes sobre-expuestos.

2.1.9. Síndrome crónico. Experiencia con los niños de Chernobyl

Este trabajo ofrece los principales resultados del programa de evaluación radiobiológica empleando la técnica de los ácidos nucleicos leucocitarios en 445 niños procedentes de 43 localidades que sufrieron diferentes niveles de sobre-exposición a las radiaciones ionizantes como consecuencia del accidente de Chernobil. Los niños se agruparon de acuerdo a los niveles de contaminación superficial con Cesio-137 existente en las localidades de procedencia inmediatamente después del accidente^{30,31}.

Universo

Los niños de Chernobyl que fueron atendidos en las áreas Tarará y citados para la realización del estudio dosimétrico correspondiente.

Criterios de inclusión

Todos los niños sanos, por criterios clínicos humorales que fueron estudiados dosimétricamente en Tarará, y que vivían en áreas contaminadas de Cesio-137 incluidas dentro de los niveles que propuestos por la UNSCEAR para el estudio y que sus representantes legales firmaron el consentimiento informado.

Criterios de exclusión

Los niños que no cumplieron lo expresado en el criterio de inclusión.

Selección de la muestra

La muestra para este estudio quedó conformada por 445 niños seleccionados aleatoriamente de las diferentes áreas contaminadas, que fueron agrupadas en 4 grupos de acuerdo a los niveles de contaminación de Cs-137 en KBq/m^2 , tal como se muestra en la Tabla 8.

Los grupos quedaron conformados de la siguiente manera:

Grupo 1: 165 niños de 20 localidades con contaminación superficial entre 0-37 KBq/m^2 .

Grupo 2: 135 niños de 15 localidades con contaminación superficial mayor de 37 KBq/m^2 y menor de 185 KBq/m^2 .

Grupo 3: 85 niños de 7 localidades con contaminación superior a 296 KBq/m^2 .

Grupo 4: 60 niños de una localidad con contaminación superficial desconocida³⁰.

Método

Las variables explicativas seleccionadas en el estudio fueron la edad y el número de pueblos agrupados por el nivel de contaminación superficial de Cs-137 en KBq/m^2 .

Los niños fueron encuestados para conocer el lugar de procedencia siguiendo los criterios clasificatorios recomendados por UNCEAR.^{30,31}

La zona limpia quedó conformada por el primer grupo proveniente de Kiev y de ellos se estimaron los valores de referencia de los ANLSP para este estudio.

Tabla 8. Características de los niños provenientes de diferentes áreas de contaminación agrupados en diferentes grupos.

Grupos	Contaminación Cs-137 KBq/m ²	Número Pueblos	Total de Niños	Intervalos de edades
Grupo 1	0-37	20	165	6-14
Grupo 2	37-187	15	135	9-14
Grupo 3	≥296	7	85	7-14
Grupo 4	Desconocido	1	60	9-12
Totales		43	445	

Resultados

En la Tabla 8 se muestran las cantidades de niños provenientes de las diferentes zonas clasificatorias y los porcentos que representan en relación al total estudiado. Se separaron los niños totalmente sanos de los que tenían hiperplasias tiroideas (HT).

Tabla 9. Grupos de niños estudiados por zonas y diferenciados los sanos de los que presentaron hiperplasias tiroideas

Zonas según clasificación UNSCEAR	Número de niños sanos	% de niños sanos respecto al total	Niños con HT	% de niños con HT respecto al total
Zona 1	82	49.7%	83	50,3%
Zona 2	51	37.8%	84	62,2%
Zona 3	66	77,6%	19	22,4%
Zona 4	52	86,7	8	13,3%

Para conocer si las hiperplasias tiroideas que presentaban los niños, incidían en el valor porcentual de los ácidos nucleicos en cada grupo, se diferenciaron los que presentaron esta patología del resto, tal como se muestra en la Tabla 9.

La distribución fue normal en todos los grupos y las diferencias por edades y entre los niños con hiperplasia tiroidea y los sanos no fueron estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), lo que permitió unir ambos grupos y hacer un solo valor de referencia para cada zona utilizando los percentiles^{30,31,62}.

La Tabla 10 muestra los valores promedios de los ácidos nucleicos por zonas según la clasificación de UNSEAR. Estos resultados coinciden con los reportes del UNSCEAR 2008, 2010, y 2012 en relación a las consecuencias del accidente de Chernobyl.

Tabla 10. Resultados de los valores de ácidos nucleicos en los grupos estudiados.

Grupos	Valor medio de Ácidos Nucleicos \pm DS	Intervalo de Confianza	Número de casos en ·% Bajos	Número de casos en ·% Altos
Grupo 1	3,00 \pm 0,90	1,20 - 4,80	1 (0,61)	6(3,60)
Grupo 2	3,04 \pm 0,94	1,16 - 4,92	3(2,20)	5(3,60)
Grupo 3	3,18 \pm 0,95	1,28 – 5,08	0	6(5,80)
Grupo 4	3,61 \pm 1,37	0,87 – 6,35	0	7(11,80)

Como se puede apreciar en este estudio no obtuvimos diferencias significativas en ninguna de las zonas estudiadas con respecto a los valores de referencia obtenidos de la zona limpia^{30,31}.

Discusión

Los resultados obtenidos en los niños de Chernovil muestran que no existen cambios en los sistemas hematopoyéticos, poli síndromes neurológicos u osteocondrosis relacionadas con la exposición después de transcurrido un periodo de 10 años.

En la muestra estudiada tampoco se observaron variaciones en las cifras referenciales de los ácidos nucleicos. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el servicio de dosimetría del CPHR, aplicando otro indicador biológico a esta misma muestra: las aberraciones cromosómicas^{62,68}. En ninguna de las localidades estudiadas aparecieron aberraciones cromosómicas, evidenciándose que los niveles de dosis recibidos por los niños en sus respectivas localidades no indujeron daños genómicos.

Recientemente se evaluó la posible afectación al ADN por la contaminación interna con Cs-137. Para ello se aplicó el ensayo cometa a los linfocitos de 27 niños seleccionados de la muestra estudiada con contaminación interna demostrada en los estudios de dosimetría interna, y a 29 niños que no estaban contaminados internamente (grupo control). Los resultados obtenidos evidenciaron que no se han producido alteraciones detectables en el ADN⁵⁷, lo cual corrobora los resultados de la técnica de ácidos nucleicos leucocitarios obtenidos en este trabajo en la población estudiada^{22,30}.

Un estudio preliminar realizado por la autora con los pilotos de las líneas aéreas DC10 de Cubana de Aviación, sujetos a un programa de control dosimétrico como trabajadores ocupacionalmente expuestos, empleando la técnica de ácidos nucleicos como parte del examen médico de control de salud de estos trabajadores no encontró evidencias de alteraciones en la cifras normales de los ácidos nucleicos^{36,71}. Estudios realizados por otros autores en pilotos empleando otros indicadores biológicos³: aberraciones cromosómicas, micronúcleos, no encontraron alteraciones en las cifras normales de los mismos. Estos hallazgos corroboran que en el caso de las exposiciones crónicas los efectos estocásticos se manifiestan ligeramente a partir de los 20 años y que los indicadores biológicos existentes no expresan cuantitativa ni cualitativamente los cambios que pudieran estar ocurriendo en el organismo debido a estas exposiciones⁶⁸⁻⁷¹

Un estudio realizado por Aklelev⁵¹ sobre los efectos provocados por las exposiciones crónicas durante más de 20 años de seguimiento muestra que las

manifestaciones clínicas del síndrome crónico son desapercibidas y están ausentes en la mayoría de los exámenes clínicos, por ser los síntomas muy leves y los trastornos que producen retornan a la normalidad en un periodo de tiempo corto. Esto hace que se pierdan datos para una mejor relación dosis-efecto.

Los reportes de las UNSCEAR 2010³⁰, plantean que la exposición crónica trae aparejada síntomas muy leves que aparecen de manera natural en la población y carecen por tanto de relevancia, por lo que se constata un pobre avance en el tema en relación a:

1. Falta de especificidad en el tipo o las características de la enfermedad inducida por las radiaciones.
2. Periodos muy largos que lleva más de decenios, entre la exposición crónica y la aparición de estas enfermedades.

En la actualidad según UNSCEAR, se considera que la respuesta adaptativa correcta vinculada a la exposición a bajas dosis es aquella en la que los sistemas defensivos existentes en las células reconocen y reparan el daño que la radiación provoca sobre los ácidos nucleicos sin variaciones cualitativas ni cuantitativas².

La correcta reparación de esos complejos daños en el ADN resulta difícil, e incluso a bajas dosis de radiación, es posible que haya una probabilidad muy reducida, aunque no nula de que se produzcan mutaciones en el ADN.

Por tanto a bajas tasas de dosis o exposiciones crónicas, la mejor respuesta adaptativa ante el riesgo de exposición radiacional es aquella que permite mantener la integridad de los valores cuantitativos de los ácidos nucleicos, lo cual está vinculado en parte por la capacidad de repuesta de las células para reparar el daño provocado en el ADN debido a la exposición a las radiaciones².

Las bajas tasas de dosis de radiación muestran diferentes respuestas en los ácidos nucleicos, en dependencia de la capacidad antioxidante de cada individuo, que puede traducirse en diferentes formas de respuesta adaptativa⁶⁰

1. Actividad incrementada de reparación genética.
2. Capacidad de respuesta adaptativa, que se mide cuantitativamente, por la eficacia de los mecanismos de reparación que mantienen inalterable las cifras de los ácidos nucleicos, manteniendo viable la célula sin cambios genómicos.

Las radiaciones ionizantes al interactuar con la materia viva pueden originar cambios moleculares, celulares o muerte celular. En la mayoría de los casos, a bajas dosis ocurren fundamentalmente cambios moleculares, los cuales se reparan y por consiguiente el efecto de la irradiación no es clínicamente observable.

Existen datos experimentales que demuestran que las mutaciones del ADN pueden ser reducidas por una pequeña dosis de radiación condicionante previa, debido probablemente al estímulo de los mecanismos de reparación de las células. Un proceso de respuesta adaptativa de ese tipo ha sido demostrado en investigaciones ^{54,56}. La respuesta celular es transitoria y parecen existir variaciones individuales. Debido a que se reconoce que la eficacia de la reparación del ADN no es absoluta, la adaptación ocurre probablemente junto con los procesos de mutación del ADN y sus efectos subsiguientes. El alcance entre la reparación celular estimulada y el daño residual todavía no resulta claro. En momentos actuales se le da una importancia relevante a la determinación de los ácidos nucleicos totales. En este contexto, este indicador altamente específico de daño por radiación, es una herramienta de inestimable valor que permite evaluar de forma cuantitativa y directa la respuesta adaptativa a este riesgo^{30,31,54-57}.

Las patologías que se asocian a bajas dosis o exposiciones crónicas son muy inespecíficas y fluctuantes, y la relación entre estas y la exposición solo es posible establecerla pasada más de 2 décadas. La importancia del desarrollo de indicadores específicos de daño radiacional para evaluar la capacidad de respuesta adaptativa aparece en el reporte de la UNSCEAR 2010³⁰ y 2012⁵⁴, en la que plantean que la inespecificidad de las patologías y la alta frecuencia espontánea de los trastornos que pudieran ser asociados al síndrome crónico en poblaciones no expuestas y el periodo tan largo necesario para vincular las

mismas con las exposiciones requiere que los investigadores utilicen técnicas que evalúen la respuesta adaptativa.

La experiencia obtenida del estudio de los niños de Chernovil en este trabajo, muestra que la respuesta adaptativa mantiene integra la cantidad de ácidos nucleicos y la capacidad de defensa antioxidante ante el estrés oxidativo que induce la radiación sobre la materia viva. En esta población como ya se señaló, otros indicadores biológicos^{63,73} tampoco mostraron variaciones de sus valores referenciales, lo cual indica que la integridad de los valores cuantitativos de los ácidos nucleicos pudiera ser potencialmente un indicador para evaluar la capacidad de respuesta adaptativa en el síndrome crónico.

2.1.10. Conclusiones parciales

1. El incremento brusco en la dinámica variacional de los ácidos nucleicos es un indicador temprano de la recuperación del organismo de los efectos de las radiaciones ionizantes en los pacientes sometidos a trasplante de médula ósea y puede emplearse como valor pronóstico en situaciones de sobre-exposición.
2. La dinámica del estrés oxidativo es un parámetro evolutivo del síndrome radiacional agudo.
3. La ausencia de cambios en los valores referenciales de los ácidos nucleicos en los niños estudiados en 10 años de seguimiento se corrobora con los

resultados obtenidos con otras técnicas biosimétricas aplicadas al mismo grupo de pacientes.

4. Los resultados obtenidos muestran que la integridad cuantitativa de los ácidos nucleicos pudiera ser un indicador para evaluar la capacidad de respuesta adaptativa en el síndrome crónico.

3. CONCLUSIONES

1. Se desarrolló una metodología biodosimétrica de respuesta rápida aplicable a situaciones de exposición accidental a las radiaciones ionizantes basada en la cuantificación de los ácidos nucleicos leucocitarios, que ha sido incluida en los protocolos del Manual de Asistencia a Radioaccidentados de América Latina y del OIEA.
2. La cuantificación de los ácidos nucleicos en modelos de animales de experimentación irradiados a diferentes dosis permite establecer la clasificación del daño biológico radioinducido y su dinámica variacional es un indicador pronóstico de sobrevida al síndrome agudo que evidencia el restablecimiento del compromiso sistémico-hematopoyético.
3. El rango de los ácidos nucleicos obtenido por primera vez en sujetos sanos de la población cubana puede emplearse como referencia para la estimación del daño biológico en sujetos sobre-expuestos.
4. El incremento brusco en la dinámica variacional de los ácidos nucleicos mostró ser un indicador temprano de la recuperación del organismo de los efectos de las radiaciones ionizantes en los pacientes sometidos a trasplante de médula ósea y puede emplearse como valor pronóstico en el síndrome agudo en sujetos sobre-expuestos.

5. La experiencia con los niños de Chernobyl sugiere que la integridad cuantitativa de los ácidos nucleicos puede ser un indicador de evaluación de la capacidad de respuesta adaptativa en el síndrome crónico.

4. RECOMENDACIONES

1. Emplear la metodología descrita en situaciones de exposiciones accidentales que ocurran en nuestro país.
2. Incluir la dosimetría biológica en el examen médico de control de salud que se realiza a los trabajadores ocupacionalmente expuesto.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹Lamadrid Boada A I, Mandina Cardoso T, González Mesa J E, Romero Aguilera I, García Lima O. “Nuevas curvas de calibración para la dosimetría biológica en Cuba” Nucleus [Internet]. 2011 Ene-Jun. [Citado 15 Ene 2013]; 49:3-8. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttex&pid=s0864-084x2011000100001

²Comité Científico de Naciones Unidas Efectos de la Radiación Atómica: “Sources and effects of ionizing radiation “.Report to the General Assembly with Scientific Annexes.; 2008.

³Prieto J M, Moreno M, Nava P, Zapata L, Heranz R, “Investigación mediante técnicas de dosimetría biológica de posibles efectos sobre la salud por causa de las radiaciones ionizantes en profesionales de líneas aéreas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Iberia. [Internet] 2011. Ene-Mar [Citado 15 Enero 2013]; 183 (18) Disponible en: <http://www.semae.es/wp-content/uploads/2011/11/radiaciones-y-lineas-aereas.pdf>.

⁴ BarderJ L, NemhauserJ, , Chang F, Mashayekhi B, Segcur M, Knebel A.. Radiación event medical management: website guidance for health care providers. Prehosp Emerg Care. 2008;12(1):1-11.

⁵IAEA International Atomic Energy Agency. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: A manual. Vienna,. Technical Report 405. Austria.2001.

⁶International Standardization Organization. Radiological protection - Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics. [Internet] Geneva: ISO Office ;19238 .2004 [updated 2013 May 16;[cited 2013 Aug12]. Available from: http://iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=52157

⁷International Standardization Organization. Radiation protection - Performance criteria for service laboratories performing cytogenetic triage for assessment of mass casualties in radiological and nuclear emergencies - General principles. . [Internet] Geneva: ISO Office; ISO 21243. 2008 [cited 2013 Aug12]. Available from: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail

⁸Martin PR, Berdychevski RE, Subramanian U, Blakely WF, Prasanna PGS. "Sample tracking in an automated cytogenetic biodosimetry laboratory for radiation mass casualties." *Radiat Measurements*: 2007; 42:1119–24.

⁹Bertho JM, Roy L, Souidi M, Benderitter M, Bey E, Racine R, Fagot T, Gourmelon P. "Initial evaluation and follow-up of acute radiation syndrome in two patients from the dakar accident". *Biomarkers*. 2009;14(2):94-102.

¹⁰Giovanetti A , Sgura A, Georgia A, ".Biological dosimetry. How to measure the absorbed dose in different scenarios. Italian national agency for new technologies, energy and sustainable economic development Rome: ENEA; 2012.p.34.

¹¹Blakely W.F. "Acute (early response) biological dosimetry)" In "Radiation Conference Epidemiology and Dosimetry. National Cancer Institute. [Internet] 2011 May [cited 2013 Jan 15] Available from: <http://pryprofile.cos.com/wfbblakely>

¹²LÖBRICH M, RIEF N, KÜHNE M, et al. "In vivo formation and repair of DNA double-strand breaks after computed tomography examinations. Proc. Natl. Acad. Sci. 2005; 102(25): 8984-89.

¹³Wundergem Jan, Roseblatt E." IAEA activities related to radiation biology and health effects of radiation" Radiol Prot 2012; 32 (123) doi: 10.1088/0952-4746-32/1N123

¹⁴Kritsky,A, y cols."Nucleic acids determination for radiation injury" Dokladii Academic Nauk, 1980 Vol 3, p 92-6.

¹⁵Blakely W. F., Ossetrova N.I, Manglapies G.L., Sulter C. S., Levine I. H., "Proceedings of the 7th International Symposium on EPR. Dosimetry and applications and 2nd International Conference on Biodosimetry " Radiation Measurements. 2007. Vol 42 Issues 6-7. July-August . p 1164-1170

¹⁶Blakely W F, Ossitrova N I, Manglapies GL, Sulter C.A. "Technical Unit for Radiation Biology and human health kinetics algorithm base of the AFRRRI BAT program indicator triage tool for identifying individuals with potentially severe radiation.[Internet] 2012. [Cited 2013 Jan15]. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.radneas/2012>

¹⁷Tenchova B., Tutov P, Minkova M.” Early diagnostic of radiation damage through the nucleic acids concentration in blood” Roentnology and Radiology, 1981; 1: 53-7.

¹⁸Minkova M., Tenchova V Annual meeting of the European Society for Radiation Biology”. Int. J. Radiot. Biol.1985;79(723) :26-30

¹⁹Minkova M, Tenchova B, Pantev T.”. Pronostic possibilities in nucleic acids levels for appraising radiation damage in rats”, In: Medical Conference Academy Institute of Roentnology and Radiobiology, 1976 Se 13-15; Sophie, Bulgaria;1977.

²⁰Tenchova V Autoreferat Respuesta radioinducida por exposición a diferentes transferencias lineales de energía de los ácidos nucleicos leucocitarios. Empleo de la técnica en la evaluación de sustancias radioprotectoras y en el cálculo de dosis en exposiciones agudas y aplicación de la técnica en las crónicas. Comunicación Personal .Bulgaria ;1986. Instituto de Medicina Nuclear, Radiobiología e Higiene de las Radiaciones.

²¹Minkova M. Comunicación Personal, 2008. Empleo y uso de la técnica dosimétrica de los ácidos nucleicos en modelos de irradiación parcial e irradiación corporal total.

²²Organización Mundial de la Salud. Noviembre 2012. Efecto biológico de exposición a radiaciones ionizantes. Empleo de la biodosimetría molecular de los ácidos nucleicos. No 371.

²³IAEA/NSR/2012 Printed in the IAEA in Austria. Nuclear Safety Review for the Year 2012

²⁴Autoridad Regulatoria Nuclear, Organismo Internacional de Energía Atómica. Curso de Postgrado en Protección Radiológica y Seguridad Nuclear de las Fuentes de Radiación. Módulo de efectos biológicos de las radiaciones ionizantes .Buenos Aires; Argentina; 2008.

²⁵ Comité Internacional de Protección Radiológica. Anexo A. 103; 2007.

²⁶Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones."Efectos biológicos de las Radiaciones Ionizantes. Efectos estocásticos somáticos "[Internet].2011 [Citado 15 Ene 2013]. Disponible en: <http://www.shideshare.net/efectos-biológicos-de-las-radiaciones-ionizantes.pdf>

²⁷ ROCH-LEFÈVRE SH, MANDINA T, VOISIN PA, et. al. Quantification of γ -H2AX foci in human lymphocytes: a method for biological dosimetry after ionizing radiation exposure. Rad. Res. 2010; 174(2): 185-194.

²⁸Jentsch A M., Heint B, Peter F, and Hans K. Biessalski "Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids". Free Radical Biology & Medicine, 1996. 20,(2) 251-6.

²⁹Miller NJ, Rice-Evans CA." Espectrophotometric determination of antioxidant activity" *Redox Report* .1996 :2:161-71

³⁰ Comité Científico de Naciones Unidas Efectos de la Radiación Atómica "Biological Mechanism of radiation actions at low doses". [Internet]. 2012.[Cited 2013 Aug12] Available from: <http://www.unscear.org>

³¹ Comité Científico de Naciones Unidas Efectos de la Radiación Atómica "Report to the General Assembly with Scientific Annexes. Volume II Annex D: "Health effects due to radiation from Chernobyl. New York.2008. <http://www.unscear.org>

³²Fattibence P, Wojuki A "Biodosimetric tolos for a fast "trriage" of people accidentally exposed to ionizing radiation". *Ann Inst Super Sanita*.2009 ;45(3):245.

³³Vaurne A, Roch-L and Voisin P (2012). Biological dosimetry of Ionizing radiation. *Current Topics Ionizing Radiation Research* [Internet]. 2012. [[Cited 2013 Aug12] Available from:

<http://www.intechopen.com/books/current-topics-in-ionizing-radiationresearch/biological-dosimetry-of-ionizing-radiation>

³⁴García Lima O, Manzano J, Morera Carrillo ML, "Estudio de individuos expuestos a bajas dosis de radiaciones ionizantes "Fondos de Manuscritos del CIEN. 1993.

³⁵Morera Carrillo ML, Dubner D, Carnot J, Pérez MR, García O, Gisone P. "Evaluación de indicadores pronósticos y evolutivos aplicables a situaciones accidentales de sobreexposición a radiaciones ionizantes". In "V Regional Congress on Radiation Protection and Safety. Brazil. 2001.p. 47.

³⁶Morera Carrillo ML, Zerquera JT, Molina M, González P. 2010 (Proceedings Series IAEA). "Preliminary study of Indicators useful for assessing Risk from Exposure to Cosmic Radiation in Cuban crew". [Internet] 2010 Jul [cited 2013 Aug 12]. Available from: <http://www.irpa12.org/fulpapers/FP036.pdf>

³⁷García O, Lamadrid A, Morera Carrillo M. L, Mandina T. "Indicadores biológicos en Cuba Actualidad y perspectiva".En "V Congress on Radiation Protection and Safety Brazil. 2001.p.90

³⁸Cárdenas J, Morera CarrilloML, García O, Lamadrid Boada A. "Evaluación Médica de trabajadores involucrados en exposiciones ocupacionales anormales".. En: IV Congreso del IRPRA.Argentina; 1998.p7-22

³⁹Morera Carrillo M L García O, López I, Dubner Leda D, Pérez M R, Gisone P, et al. Proyecto ARCAL RLA En : XXXVII Reunión final de coordinadores. [Internet] 2010 Dic [citado 12 Jul 2013] Disponible en: <http://www.radioproteccion.org/arcallxyi.htm>

⁴⁰García Lima O, Lamadrid A, Mandina T, Morera Carrillo M L, "Manual de asistencia a radioaccidentados". Nucleus 2006 pdf. 40 (12):44

⁴¹Morera Carrillo ML, García Lima O, Navarro I, Proenza Suárez E, Carnot J, Jiménez R." Aplicación de la dinámica variacional de los ácidos nucleicos como pronóstico de sobrevida en pacientes sometidos a irradiación corporal total para trasplantes de médula ósea" Taller de de Seguridad Radiológica y Nuclear. 1996; 2:59-61

⁴²Alonso C, Morera Carrillo M L, Carnot J "Valor pronóstico de las hormonas tiroideas en la evolución del trasplante de médula ósea".T3 En: Memorias del 4to Congreso regional del IRPA, 1998.p. 10-45

⁴³Alonso C, Morera Carrillo M L, Carnot J "La irradiación corporal total como elemento diferencial en pacientes trasplantados de órganos".T3 En: Memorias del 4to Congreso regional del IRPA, 1998. Pág. 10-41

⁴⁴Morera Carrillo M L, García Lima O, Navarro I, Proenza Suárez E, Carnot J, Jiménez R "Los ácidos nucleicos y otros indicadores en la evaluación de la recuperación en pacientes sometidos a trasplantes de médula ósea".T3. En: Memorias del 4to Congreso de regional del IRPA, 1998 p. 10-4

⁴⁵Morera Carrillo M L, García Lima O, Navarro I, Proenza Suárez E, Carnot José. "Los ácidos nucleicos como indicadores tempranos de la recuperación en pacientes sometidos a trasplantes de médula ósea" Nucleus 2000; 6 (29), 12-8.

⁴⁶Alonso Rodríguez C, Morera Carrillo ML" Comportamiento de las hormonas tiroideas y el manolaldehído en la evolución del trasplante de médula ósea". Revista Cubana de Invest. Biomed. 2002 abril-junio 21;(2):76-80

⁴⁷Alonso Celia, Morera Carrillo Maria de Lourdes, García Isabel "Comportamiento de las hormonas tiroideas y los ácidos nucleicos en pacientes sometidos al trasplante de médula ósea" Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas.2005; Vol. 24 No4/05/ibi 0305 Pág. 124.

⁴⁸Pérez Alejo José L., Piñón José I , Montano Ana G, Morera Carrillo M de Lourdes, García Sánchez Maura; et, al "El balance redox en personas expuestas a radiaciones electromagnéticas radiaciones no ionizantes". Revista Cubana de Medicina Militar 2006 Enero –Marzo, 35 (1). [citado 2011] Mayo 28. Available from: <http://adep.es/index.asp?ra-id78>

⁴⁹Pérez Alejo José L., Piñón José L, Montano Ana G, Morera Carrillo M de Lourdes, García Sánchez Maura; Martín Martínez Sara, Falcón Aguiar María Elena .Revista Cubana LADEP_Rad. No ionizantes." Las radiaciones electromagnéticas y su influencia sobre la salud humana". 2003; (VV-Inf R) Publicación con el MINFAR

⁵⁰Pérez Alejo José L., Piñón José L, Montano Ana G, Morera Carrillo M de Lourdes, García Sánchez Maura; Martín Martínez Sara, Falcón Aguiar María Elena. Rev. Militar." Radiaciones electromagnéticas y estrés oxidativo" 2006 Vol. (35)1

⁵¹Gumero Jacqueline, Morera Carrillo Maria de Lourdes, “Evaluación neurovegetativa cardiovascular “neuromega” en personal expuesto a radiaciones no ionizantes”. Revista Cubana de Medicina Militar .2006. Julio-Septiembre. Vol 35(3)

⁵²De la Paz José, Morera Carrillo Maria de Lourdes.”La farmacología y la vigilancia en salud ocupacional”. Rev. Cubana de Farmacia 36. 2002 (sup. especial No 2): 36-3

⁵³Janusz Tuśnio “Overhead power transmission lines as a threat to public health and safety “ Kielce University of Technology, Proceedings of the 10Th International Conference ;.2010 May 19-21. Lithuania .. E-mail: janwlad1@op.pl

[http:// www/vgtu.lt/en/editions/proceedings,2010](http://www.vgtu.lt/en/editions/proceedings,2010)

⁵⁴UNSCEAR 2010 “Sumary of low doses radiation effects on health”. General Assembly (A/65/76). New York 2010. [http: www.unscear.org](http://www.unscear.org)

⁵⁵ Anchante Segura Hubert; Curso de Protección y Seguridad Radiológica (cód. 26213). Universidad Alas Peruanas Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela Académico Profesional de la Tecnología Médica 2012. Nuclear_radipdf. 26012651.pdf

⁵⁶ Akleyev V.. “Chronic radiation syndrome among residents of the techa riverside villages Radiation Protection”. Dosimetry (2012): Vol. 151, No. 4, pp. 689–695 Advance Access publication 22 August A. * Urals Research Center for Radiation

Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation, 68-A, Vorovsky Street, Chelyabinsk
454076, Russia

⁵⁷ [Veremeyeva G](#), [Akushevich I](#), [Pochukhailova T](#), [Blinova E](#), [Varfolomeyeva T](#), [Ploshchanskaya O](#), [Khudyakova O](#), [Vozilova A](#), [Kozionova O](#), [Akleyev A](#). “Long-term cellular effects in humans chronically exposed to ionizing radiation”. [Health Phys.](#) 2010 Sep; 99(3):337-46

⁵⁸ [Metz-Flamant C](#), [Laurent O](#), [Samson E](#), [Caër-Lorho S](#), [Acker A](#), [Hubert D](#), [Richardson DB](#), [Laurier D](#). “Mortality associated with chronic external radiation exposure in the French combined cohort of nuclear workers”. [Occup Environ Med.](#) 2013 Sep;70(9):630-8. *Medicina (Buenos Aires) versión On-line* ISSN 1669-9106 Nov/dic 2012

⁵⁹ Arun P., Oguntayo S., Alammeh Y., Honnold C., Wang Y. et al (2012). Ed .
Cesario V. Bolorgan, University of South Florida , United states of America.
“Rapid realease of Tissue Enzymes into Blood after Blast Exposure potencial use
in biological dosimeters”. April 6 Plos One 7(4) : e 33798. Doi:
10.1371/journal.pone.0033798

⁶⁰ Dubner D, Pérez M del Rosario, Barboza M., Sorrentino M., Robinson A.,
Gisone P., “Indicadores Evolutivos de recuperación medular en trasplante de
médula ósea después de irradiación corporal total”. *Medicina (Buenos Aires).*
Versión on –line ISSN 1669-9106 Nov /dic 2012

⁶¹ Morera Carrillo Maria de Lourdes, Navarro Iván, Proenza Suárez Emma.1996 "Estudio bioquímico en niños de localidades afectadas por el accidente de Chernobyl" Memorias del Segundo Congreso Regional de Seguridad radiológica y Nuclear. Vol. II, Pág. 158.

⁶² IAEA.(Organizacion Internacional de Energia Atomica) 1997. "Dosimeter and biomedical studies conduced in Cuba of children from areas of former USSR affected by the radiological consequences of the Chernobyl Accident "IAEA, Vienna, and IAEA-TECDOC-958.

⁶³ Morera Carrillo Maria de Lourdes, Jiménez Rosa, Proenza Suárez Emma, 1994. "Estudio de la dinámica variacional de cifras de ácidos nucleicos en animales de experimentación sometidos a irradiación gamma aguda". Fondos de Manuscritos del CIEN

⁶⁴ Morera Carrillo Maria de Lourdes, Jiménez Rosa, Proenza Emma, "Estudio de la variación porcentual de los acidos nucelicos leucocitarios a diferentes dosis en animales de experimentación sometidos a irradiación corporal gamma aguda"1994 cc/114-9c (Aprobado para publicar como reporte científico del CEAC). Fondos de Manuscritos del CIEN

⁶⁵ Morera Carrillo Maria de Lourdes, Jiménez Rosa, Proenza Emma, "Estudio de las cualidades radioprotectoras del dietilditiocarbamato de sodio, comportamiento de algunas variables fisiológicas de ratones irradiados y

protegidos”1994 cc/114-9c (Aprobado para publicar como reporte científico del CEAC) Fondos de Manuscritos del CIEN.

⁶⁶De la Paz José, Morera Carrillo Maria de Lourdes. "Ácidos nucleicos en el ratón con mielosupresión por quimioterapia y tratado con Aloe barbaensis Miller" Rev. Cubana de Plantas Medicinales. 2003. Vol. 8(4)

⁶⁷Morera Carrillo Maria de Lourdes, Proenza Suárez Emma, Jiménez Rosa. "Estudio de cifras normales de ácidos nucleicos en población cubana. 1996. Fondos de manuscritos del CIEN

⁶⁸García O., Mandina T. 5th International Comet Assay Workshop", Aberdeen, UK, August 2003 - "The influence of the Cs-137 internal contamination caused by the Chernobil accident on the level of DNA damage evaluated by the comet assay in lymphocytes of Ukrainian children".

⁶⁹"Efectos biológicos de bajas dosis" [http://: www.foronuclear.org/.../115684-65-ique-efectos-biologicos-se-producen-con-dosis-bajas-de-radiacion](http://www.foronuclear.org/.../115684-65-ique-efectos-biologicos-se-producen-con-dosis-bajas-de-radiacion) En caché 20 Feb 2012.

⁷⁰William F. Blakely, Zhanat Carr, May Chin-May Chu, Renu Dayal-Drager, Kenzo Fujimoto, Michael Hopmeir, Ulrike Kulka, Patricia Lillis-Hearne, Gordon K. Livingston, David C. Lloyd, Natalie Maznyk, Maria Del Rosario Perez, Horst Romm, Yoshio Takashima, Phillipe Voisin, Ruth C. Wilkins, and Mitsuaki A. Yoshida (2009) WHO 1st Consultation on the Development of a Global

Biodosimetry Laboratories Network for Radiation Emergencies (BioDoseNet).
Radiation Research: January 2009, Vol. 171, No. 1, pp. 127-139.

⁷¹Morera Carrillo M Lourdes, González Pablo, Navas Manuel 2011 "Primeras experiencias en Cuba en la aplicación de la NC 15189 en el Laboratorio Clínico del Centro Médico de la Aviación Civil de Cuba". MEDLAB, 2011 enero –marzo., Vol. 3 No1.México

⁷²Efectos de las bajas dosis de Radiación Gamma en el daño. <http://www.buenastareas.com/.../Efectos-De-La-Baja-Dosis.../1868478.html>

⁷³García O, Lamadrid Boada A, Morera Carrillo ML, Mandina T "Introducción y desarrollo de la Dosimetría Biológica en Cuba". Nucleus. 2005;37: 50-54.

ANEXO 1

Consentimiento Informado

Paciente: _____ **CI :** _____

Personal que informa : _Jefe de Proyecto de la Secretaria Ejecutiva para Asuntos Nucleares (SEAN).

Tipo de Procedimiento a realizar: Obtención de muestra en el Examen Médico control de salud, a personal sano en su chequeo periódico.

Explicación breve y sencilla del objetivo del procedimiento, en qué consiste el mismo y la forma en que se va a llevar a cabo:

Este es un procedimiento que se llevará a cabo tomando una parte de la muestra de sangre extraída para su chequeo periódico, 3 mL., para determinar los valores de referencia de llos ANLSP en población cubana.

Descripción de las consecuencias seguras y riesgos de la intervención :

Estos procedimientos no tienen riesgos, ni reacciones adversas, las molestias son inocuas y no está obligada o implica cambiar o abandonar costumbres, hábitos, creencias, valores, actitudes ni tratamientos.

Declaración del paciente : He recibido y estoy satisfecho por información acerca del procedimiento analítico incorporado a mi batería de exámenes para colaborar en la investigación planteada.y **ACEPTO** _____ , **NO ACEPTO** _____ por mi propia elección y teniendo en cuenta mis preferencias y la posibilidad de revocar en cualquier momento el consentimiento informado.

Fecha :

Firma del paciente : _____ **Firma del Informante :**

En caso de ser revocado el Consentimiento informado:

Causas:

Fecha : _____

Firma del paciente : _____

ANEXO 2

Consentimiento Informado

Paciente: _____ **CI :** _____

Personal que informa : Jefe de Proyecto ramal del CPHR:

Tipo de Procedimiento a realizar: Obtención de muestra en el seguimiento protocolizado a los pacientes sometidos al trasplante de médula ósea.

Explicación breve y sencilla del objetivo del procedimiento, en qué consiste el mismo y la forma en que se va a llevar a cabo:

Este es un procedimiento que se llevará a cabo tomando una parte de la muestra de sangre extraída para su chequeo diario post trasplante , de 3 mL. de sangre , para determinar las variaciones de los ANLSP y corroborar su valor pronóstico.

Descripción de las consecuencias seguras y riesgos de la intervención :

Estos procedimientos no tienen riesgos, ni reacciones adversas, las molestias son inocuas y no está obligada o implica cambiar o abandonar costumbres, hábitos, creencias, valores, actitudes ni tratamientos.

Declaración del paciente : He recibido y estoy satisfecho por información acerca del procedimiento analítico incorporado a mi batería de exámenes para colaborar en la investigación planteada.y **ACEPTO** _____ , **NO ACEPTO** _____ por mi propia elección y teniendo en cuenta mis preferencias y la posibilidad de revocar en cualquier momento el consentimiento informado.

Fecha :

Firma del paciente : _____ **Firma del Informante :**

En caso de ser revocado el Consentimiento informado:

Causas:

Fecha : _____

Firma del paciente : _____

ANEXO 3

Consentimiento Informado

Paciente: _____ **CI :** _____

Personal que informa : Jefe de Proyecto ramal del CPHR:

Tipo de Procedimiento a realizar: Recolección y selección de los datos y resultados de los niños que solicitaron servicio dosimétrico a la institución y vivieron en zonas afectadas por el accidente de Chernobyl.

Explicación breve y sencilla del objetivo del procedimiento, en qué consiste el mismo y la forma en que se va a llevar a cabo:

Este es un procedimiento que se llevará a cabo seleccionando, mediante las encuestas los casos de interés de acuerdo a las zonas delimitadas por la UNSCEAR, para investigaciones del efecto de bajas dosis.

Descripción de las consecuencias seguras y riesgos de la intervención :

Estos procedimientos no tienen riesgos, ni reacciones adversas, las molestias son inocuas y no está obligada o implica cambiar o abandonar costumbres, hábitos, creencias, valores, actitudes ni tratamientos. Todos los niños sean o no de interés al proyecto investigativo se les harán los exámenes dosimétricos y tendrán individualmente sus resultados reflejados en su historia clínica.

Declaración del paciente : He recibido y estoy satisfecho por información acerca del procedimiento analítico incorporado a mi batería de exámenes para colaborar en la investigación planteada **ACEPTO** _____ , **NO ACEPTO** _____ por mi propia elección y teniendo en cuenta mis preferencias y la posibilidad de revocar en cualquier momento el consentimiento informado.

Fecha :

Firma del paciente : _____ **Firma del Informante :**

En caso de ser revocado el Consentimiento informado:

Causas:

Fecha : _____

Firma del paciente : _____