

Indicadores citogenéticos para la identificación de exposición a radiación ionizante en humanos

(Cytogenetic indicators for the identification of ionizing radiation exposure in humans)

Isabel Castro-Volio

Resumen

La biodosimetría citogenética se aplica en la evaluación médica de las personas involucradas en situaciones radiológicas anormales, con el fin de evaluar las dosis recibidas, el peligro inminente para la salud y aplicar los tratamientos médicos más adecuados. Además, contribuye al esclarecimiento de sucesos cuando existen dudas respecto a los resultados de la dosimetría física por dosímetros defectuosos, no calibrados o ausentes. Es el método más preciso de dosimetría biológica, ya que existe una relación matemática que permite calcular la dosis, establecer el grado de homogeneidad de la exposición y, en caso de exposiciones no homogéneas, establecer la fracción del cuerpo irradiada y la dosis que recibió esa fracción mediante la cuantificación del número y tipos de aberraciones cromosómicas y de micronúcleos, y su distribución en los linfocitos de la sangre periférica. Para este análisis se establecen las relaciones dosis-efecto y un sistema automatizado para el cálculo de las dosis de radiación recibidas. Actualmente se está desarrollando un proyecto conjunto Universidad de Costa Rica – Hospital San Juan de Dios, con el objetivo de explorar los efectos cromosómicos de la radiación, en pacientes expuestos por razones terapéuticas y atendidos en este hospital. De igual modo, se hará la curva de calibración dosis – respuesta *in vitro* para rayos gama y se validará mediante la intercomparación con el Laboratorio de Dosimetría Citogenética del Centro para la Protección e Higiene de las Radiaciones de Cuba.

Descriptor: radiobiología, dosimetría biológica, cromosomas dicéntricos, accidentes nucleares.

Abstract

Cytogenetic biodosimetry is applied in the medical evaluation of persons involved in radiological abnormal situations in order to assess the doses received, the imminent danger to health and to apply the most appropriate medical treatment. It also contributes to the clarification of events when there are doubts about the results of the physical dosimetry due to defective or absent dosimeters. It is the most accurate method of biological dosimetry as there is a mathematical relationship to calculate the dose, to establish the degree of homogeneity of exposure and, in the case of non-homogeneous exposures, to establish the fraction of the body irradiated and the dose it received. This is done through the quantification of the number and types of chromosomal aberrations and micronuclei and their distribution in peripheral blood lymphocytes. For this analysis, the dose-effect relationships and an automated system for calculating radiation doses are established. Currently we are developing a joint project University of Costa Rica - San Juan de Dios Hospital, in order to explore the effects of radiation on the chromosomes of patients exposed for therapeutic reasons and treated at this hospital. Similarly, we will make the calibration curve for the dose - *in vitro* response for gamma rays and validate it by intercomparison with the Cytogenetic Dosimetry Laboratory of the Center for the Protection and Radiation Hygiene of Cuba.

Keywords: radiobiology, biological dosimetry, dicentric chromosomes, nuclear accidents.

Fecha recibido: 22 de octubre de 2012

Fecha aprobado: 4 de abril de 2013

Laboratorio de Genética
Citomolecular, Instituto de
Investigaciones en Salud (INISA),
Universidad de Costa Rica.

✉ isabel.castro@ucr.ac.cr

Fuentes de apoyo: Vicerrectoría
de Investigación, Universidad de
Costa Rica.

Radiación ionizante

La radiación ionizante incluye los rayos cósmicos, los rayos X y la radiación proveniente de materiales radiactivos. Vivimos en un mundo donde la radiación está presente en todas partes de manera natural. Incluso el cuerpo incluye materiales radiactivos, tales como el carbono-14, potasio-40 y polonio-210. En 1885 se descubrió los rayos X y antes de seis meses ya se estaban usando en el diagnóstico médico. Desde entonces, se ha encontrado la manera de producir radiación y materiales radiactivos artificiales. Aunque el uso de la radiación en medicina ha sido en lo fundamental beneficioso, la radiación puede ser dañina para los seres vivos, de manera que la gente debe protegerse de exposiciones excesivas e innecesarias.¹

Existen diferentes formas en las cuales se puede encontrar radiación ionizante, por ejemplo: los fotones (rayos X y rayos γ), o bien las partículas cargadas y no cargadas (partículas α , β^+ , β^- y neutrones) que tienen la capacidad de ionizar el medio que atraviesan.¹

La radiación se puede cuantificar como dosis absorbida (D) o cantidad de energía de radiación ionizante depositada por unidad de masa de material irradiado, cuya unidad en el sistema internacional es el Gray (Gy). La energía media depositada a lo largo del recorrido de una partícula por unidad de longitud se denomina transferencia lineal de energía (LET). Los rayos X y rayos γ son radiaciones de baja LET. Las radiaciones corpusculares α , β y neutrones, son de alta LET. La distribución de la energía absorbida, en otras palabras, la forma del patrón de deposición de la energía, influye en el daño biológico de un determinado tipo de radiación. Por lo consiguiente, los diferentes tipos de radiaciones ionizantes pueden diferir en la eficacia de producir daño biológico. La relación entre la eficacia de dos tipos de radiaciones se conoce como eficacia biológica relativa (RBE). Para tener en cuenta la RBE, se introdujo la dosis equivalente en radioprotección, cuya unidad es el Sievert (Sv). Un Sievert es la cantidad de radiación de cualquier tipo, equivalente al efecto biológico de 1 Gy de radiación electromagnética (rayos γ y rayos X) y en un ámbito de energía intermedio.²

También se cuenta con el concepto de dosis efectiva, que permite comparar el daño biológico de la dosis absorbida en diferentes órganos o tejidos. La dosis efectiva se puede estimar utilizando los factores de ponderación de tejidos u órganos, obtenidos a partir de la sensibilidad de estos a la inducción de tumores por las radiaciones ionizantes.²

Las fuentes más comunes de exposición a radiaciones son las prácticas médicas (medicina diagnóstica y terapéutica), las prácticas industriales u ocupacionales, los productos de consumo, el ambiente (fuentes naturales) y las exposiciones accidentales por fugas radiactivas.²

Radiobiología

La radiación deposita energía en su paso por la materia, y la radiobiología es la ciencia que estudia los fenómenos que se producen en los seres vivos, tras la absorción de energía procedente de las radiaciones ionizantes. Abarca la física, la química, la

biología y la medicina. Se enfoca básicamente en dos grandes áreas: protección radiológica y radioterapia y radiodiagnóstico.³

Características de los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes:

1. Aleatoriedad: la interacción de la radiación con las células es azarosa. Un fotón (radiación gama, rayos X) o una partícula (radiación alfa, radiación beta) puede alcanzar a una célula o a otra, dañarla o no hacerlo, y si la daña, puede ser en el núcleo o en el citoplasma.
2. Rápido depósito de energía: ocurre en un tiempo muy breve, en fracciones de millonésimas de segundo.
3. No selectividad: la radiación no muestra predilección por ninguna parte o biomolécula, es decir, la interacción no es selectiva.
4. Inespecificidad lesiva: la misma lesión puede ser producida por otras causas físicas.
5. Latencia: las alteraciones celulares no son inmediatas, tardan en hacerse visibles, y a esto se le llama "tiempo de latencia", que puede ser desde unos pocos minutos hasta muchos años, dependiendo de la dosis y tiempo de exposición.⁴

Tipos de efectos de la radiación sobre los seres vivos:

1. Según el tiempo de aparición:
 - a. Precoces: minutos u horas después de la exposición se puede presentar eritema cutáneo, náuseas.
 - b. Tardíos, meses o años después, por ejemplo: cáncer radio inducido, radiodermatitis crónica, mutaciones genéticas⁴
2. Desde el punto de vista biológico:
 - a. Efectos somáticos: solo los presenta el individuo expuesto, por ejemplo, el eritema.
 - b. Efecto hereditario: no se manifiesta en el individuo expuesto sino en su descendencia, por lesión de las células germinales, por ejemplo, mutaciones.⁴
3. Según la dependencia de la dosis: el momento cuando se manifiesta el daño radio inducido y su incidencia depende de la dosis.
 - a. Efectos estocásticos: son aleatorios y pueden aparecer tras cualquier dosis, pero con mayor probabilidad, a mayor dosis de exposición; suelen ser tardíos; por ejemplo, el cáncer radio inducido y las mutaciones genéticas.
 - b. Efectos determinísticos: se necesita una dosis umbral para producirlos; por debajo de esta, la probabilidad de aparición es muy baja. Suelen ser precoces, como el eritema cutáneo, pero también se producen a más largo plazo, como las cataratas.⁴

Los efectos de la radiación sobre los seres vivos pasan por sucesivas etapas: la primera es la física, le sigue la química y por

último la biológica, que se inicia con la activación de reacciones enzimáticas para reparar el daño producido por las radiaciones. No todo el daño celular se puede reparar, de manera que la célula muere.^{4,5}

La radiación produce distintos tipos de lesiones en el ADN, entre ellas:

- a. Rotura simple de cadena: se produce en el enlace fosfodiéster y es la lesión más abundante. Puede comprometer una sola hebra o ambas. Se considera una lesión sub letal, susceptible de reparación.
- b. Rotura doble de cadena: se rompen las dos hebras en sitios muy próximos y es una lesión letal.
- c. Lesión en las bases nitrogenadas: consiste en la pérdida de una o varias bases, la modificación química de alguna de ellas y la ligadura entre dos bases contiguas, formando dímeros. La más radio sensible es la timina. Es una lesión susceptible de ser reparada, pero cuando esto no se hace bien, puede ocasionarse mutaciones puntuales.
- d. Entrecruzamiento del ADN y las proteínas: sobre todo en las regiones activas en cuanto a replicación o transcripción.
- e. Daño múltiple localizado: se origina con la formación de racimos de ionizaciones de cierto tamaño en la proximidad de la molécula de ADN. Combina roturas dobles de cadena, roturas simples, lesiones de bases y azúcar, difíciles de reparar y letales.^{2,4}

Las diferentes células varían en su sensibilidad hacia la radiación. Algunos tipos de linfocitos y células germinales son muy sensibles y sufren apoptosis inducida por la radiación. Por el contrario, otras células que suelen mantenerse en la etapa G_0 del ciclo celular, no expresan su daño latente sino hasta que se ven inducidas a dividirse. Otras células que se renuevan a menudo, como las que cubren la piel, el tracto gastrointestinal o las de la médula ósea, responden a la irradiación dependiendo del momento de su ciclo normal de renovación (ley de la radiosensibilidad de Bergonie y Tribandeu).⁶

Radioterapia

Es el uso de radiaciones ionizantes para destruir células cancerosas. Generalmente se emplea una fuente de radiación extracorpórea para dirigir un rayo de radiación hacia el volumen del tumor. El rayo de radiación deposita energía en los tejidos y elimina solo las células expuestas a él. La fuente externa de radioterapia puede ser un aparato eléctrico, que emite radiación cuando se prende la corriente eléctrica, o una fuente radiactiva acorazada que emite radiación cuando se abre una puerta de la coraza.³

Relaciones dosis de radiación-respuesta terapéutica: incluso la radioterapia más exactamente dirigida no puede destruir el tumor sin causar algún grado de lesión en el tejido circundante. Existe un ámbito angosto de dosis y número de

tratamientos en el cual el oncólogo radioterapeuta se puede mover. Si no se dañan hasta cierto punto tejidos sanos, la experiencia indica que muy pocos tumores se podrán eliminar. Se considera una práctica aceptable para curar el cáncer, usar dosis que producirán complicaciones de moderadas a severas en solo un pequeño porcentaje de los pacientes.³

Hay una dosis umbral para la morbilidad inducida por la radiación y, conforme aumenta la dosis, la incidencia se eleva de manera abrupta hasta el nivel del 50% y luego más gradualmente hasta el 100%. El gradiente es mayor para las reacciones tardías que para las tempranas y es tejido dependiente. También el gradiente es mucho mayor con una gran dosis única que con dosis fraccionadas. Las reacciones tardías son las que suelen determinar un límite para la dosis tolerada. Los cambios vasculares son a menudo los responsables de limitar la dosis que se puede administrar a un órgano por lo demás radioresistente.³

Sobreexposición accidental de pacientes sometidos a radioterapia en el Hospital San Juan de Dios, en 1996

En esa ocasión se reemplazó la vieja fuente de cobalto por una nueva. Al calibrarse, el físico médico incorrectamente interpretó 0,3 minutos como si fuera lo mismo que 30 segundos (siendo lo correcto 18 segundos). Como consecuencia, la tasa de dosis absorbida de la nueva fuente se subestimó, lo que resultó en tiempos de tratamiento sobreestimados en un 66%. El radioterapeuta de otro hospital, cuyos pacientes estaban siendo tratados en el HSJD, se percató de reacciones inusualmente severas en algunos de los tratados con la fuente de cobalto nueva. Las reacciones se relacionaron sobre todo con la piel y el tracto gastrointestinal (diarrea y dolor abdominal). Cuando otro físico médico controló la tasa de dosis, se encontró el error. Los pacientes afectados fueron 115 y dos años después del accidente, al menos 17 habían muerto por sobreexposición.⁷

Por fortuna, los accidentes radiactivos no son frecuentes, sin embargo, suelen ser de consecuencias muy serias; algunos otros ejemplos recientes son las exposiciones accidentales de Lilo, en Georgia; de Tokaimura, en Japón, y de Bialystock, en Polonia,^{9,10} sin contar con las catástrofes de Chernobyl, en Rusia¹¹ y la de Fukushima, en Japón, como consecuencia del terremoto de marzo de 2011.

En América Latina, entre 1962 y 2005, se han producido 32 accidentes nucleares: diez en Argentina, diez en Brasil, cuatro en México, dos en Perú y uno en Bolivia, Costa Rica, El Salvador, Puerto Rico, Panamá y Chile. El saldo ha sido de 290 personas con exposiciones significativas y 32 muertes. De estos 32 accidentes mortales, 21 están relacionados con la industria y ocho con radioterapia.¹²

Indicadores biológicos para la identificación de exposición a radiación ionizante en humanos

Dado que la dosimetría física es a menudo insuficiente o ausente en casos de exposiciones accidentales, o cuando se sospecha irradiación, desde hace mucho tiempo se ha reconocido la necesidad de contar con indicadores biológicos

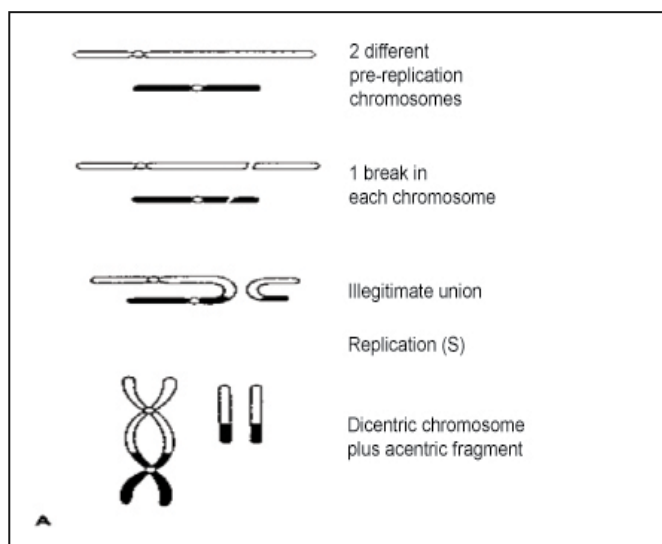


Figura A: mecanismo de formación de un cromosoma dicéntrico y su correspondiente fragmento acéntrico: dos cromosomas diferentes sufren una fractura cada uno antes de la replicación, le sigue una unión ilegítima y luego la fase de replicación o S del ciclo celular; en la metafase se observa un cromosoma dicéntrico y un fragmento acéntrico. Tomado de la referencia 4

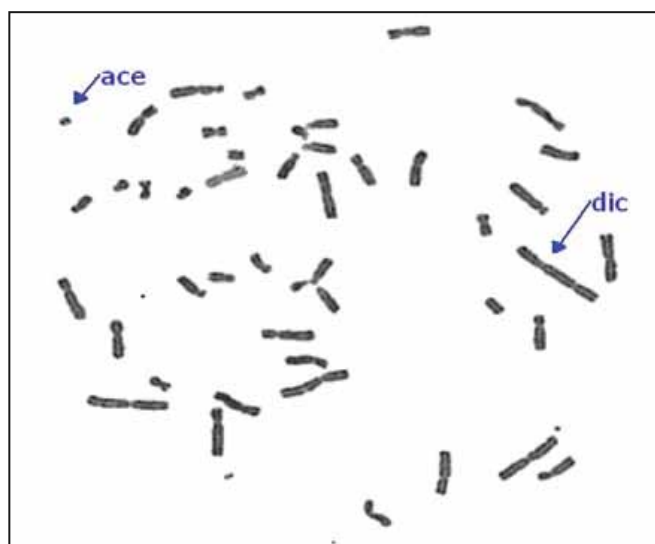


Figura B: las flechas señalan un cromosoma dicéntrico (dic) y un fragmento acéntrico (ace). Laboratorio Genética Citomolecular, INISA

para la dosimetría. Los factores que determinan la utilidad de bio marcadores potenciales son:

- Lapso después de la exposición en que son de utilidad,
- Ensayos sencillos y rápidos,
- Aplicables a grandes poblaciones,
- Buena dosis – dependencia tanto *in vivo* como *in vitro*,
- Mínima variación en el ámbito normal de individuos no irradiados,
- Específico para radiaciones o pocos factores de confusión.¹³

No existe un único método que cumpla con estos criterios en todas las situaciones, sin embargo, los ensayos citogenéticos se cuentan entre los más informativos y ampliamente usados para situaciones de exposición aguda.¹⁴

No se dispone de marcadores moleculares específicos de la irradiación, sin embargo, algunos tipos de mutaciones y aberraciones cromosómicas como los dicéntricos, se asocian fuertemente con exposición a radiación, en particular la que produce densa ionización en su recorrido, como la radiación con alta transferencia lineal de energía (LET).^{14,22}

Las radiaciones ionizantes provocan el depósito de energía en el seno de la estructura molecular del ácido desoxirribonucleico (ADN). A pesar de los mecanismos eficaces de reparación, ciertos daños pueden persistir y dar lugar a la aparición de aberraciones cromosómicas observables en el seno de los linfocitos sanguíneos, en el momento de la división celular (metafase de la mitosis). Una vez producido el daño en el ADN, la célula activa mecanismos que pueden conducir

hacia la muerte celular programada (apoptosis), o bien, hacia la reparación de los daños originados. La reparación incorrecta de las lesiones se puede observar en la metafase de la mitosis, en forma de alteraciones cromosómicas. Las cromosopatías detectadas con mayor frecuencia son:

- Lesiones acromáticas del cromosoma o gaps (chrG),
- Deleciones intersticiales y terminales o roturas de cromosomas (*breaks* o chrB), fragmentos acéntricos (ace),
- Intercambios asimétricos o cromosomas dicéntricos con su correspondiente acéntrico (figuras A y B), anillos (r),
- Intercambios simétricos o translocaciones recíprocas (t).^{2-4,14}

Estas lesiones cromosómicas pueden ser estables o inestables. Las estables permanecen durante mucho tiempo, de manera que son útiles para detectar exposición recibida incluso años atrás. Las inestables, por el contrario, son letales para las células, por lo tanto, van desapareciendo conforme las células se dividen. Las aberraciones de tipo inestable son los cromosomas dicéntricos, los anillos acéntricos y los fragmentos acéntricos. Las anomalías estables son las translocaciones y las inserciones.¹⁴ Una alteración grave en un cromosoma plantea problemas a la célula en el momento de la división celular. Así, las células portadoras de dicéntricos van a desaparecer con el tiempo. Las aberraciones de tipo dicéntrico, anillo y acéntricos, son “inestables”. En consecuencia, la validez de la estimación de dosis por la técnica es válida solo tras exposiciones agudas. En cambio, las inversiones y las translocaciones son aberraciones que no modifican la forma global de los cromosomas. No desaparecen después de la división, son “estables”. A causa de esta estabilidad pueden ser indicadores de exposiciones antiguas o crónicas.^{14,16}

Cuadro 1. Caracterización de algunos de los métodos de dosimetría biológica

Método	Células estudiadas	Periodo óptimo después de la exposición	Patrón de exposición detectado fiablemente	Ámbito aplicable
Dicéntricos	Linfocitos	Días - semanas	Agudo, cuerpo total /parcial	0,1-5 Gy
Micronúcleos	Linfocitos	Días - semanas	Agudo, cuerpo total	0,3-5 Gy
Condensación cromosómica prematura	Linfocitos	Horas - días	Agudo, cuerpo total /parcial	0,1-20 Gy
Translocaciones	Linfocitos	Retrospectivo	Agudo – crónico, cuerpo total	0,3-5 Gy
Recuento de células sanguíneas	Linfocitos Neutrófilos Plaquetas	Días - semanas	Agudo, cuerpo total	0,5-10 Gy

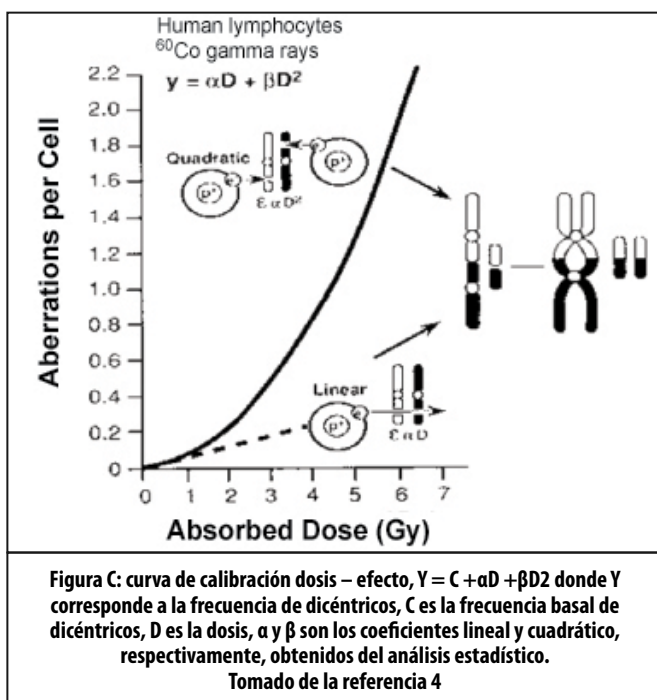
Ninguno de los indicadores biológicos de los que se dispone es muy satisfactorio para exposiciones a dosis bajas, o crónicas a dosis bajas. Encontrar un marcador idóneo en estas situaciones es sumamente importante para monitorear poblaciones expuestas.¹³

Dosimetría biológica

La radiación ionizante puede producir daños como resultado de exposiciones accidentales y ocupacionales, que a menudo es determinado mediante el monitoreo de las aberraciones cromosómicas presentes en los linfocitos de la sangre periférica. Estos procedimientos son una ayuda para los médicos que tratan a las personas irradiadas. Por lo tanto, los linfocitos circulantes que están en la fase G₀ del ciclo celular, son estimulados con un agente mitogénico para replicar su ADN

in vitro y obligarlos a entrar en la división celular, en procura de ser observados para detectar anomalías cromosómicas. La comparación con relaciones dosis – respuesta obtenidas *in vitro* permite un estimado de la exposición.¹⁴⁻²³

Aunque las radiaciones ionizantes inducen una gran variedad de alteraciones cromosómicas, se utilizan básicamente los cromosomas dicéntricos porque son fáciles de observar al microscopio, y su frecuencia basal es muy baja (1 – 2 por mil células) en individuos no expuestos a radiaciones. Además, se considera que son relativamente específicos de radiación, solo unos pocos químicos son capaces de interferir con este ensayo. Otros aspectos que lo hacen ser el estándar de oro en biodosimetría son su alta sensibilidad (una dosis umbral de 0,05 Gy) y su conocida dependencia de dosis de hasta 5 Gy (para fotones). La exposición de los linfocitos de la sangre periférica, tanto *in vitro* como *in vivo*, produce niveles de dicéntricos similares por unidad de dosis, de manera que la estimación de la dosis de una persona expuesta se puede hacer comparando las frecuencias de dicéntricos observada, con la curva de calibración dosis – efecto generada *in vitro* (figura C). Por lo tanto, el establecimiento de una curva de dosis – efecto en el propio laboratorio es el principal requisito para la estimación de la dosis recibida. Todos los tipos de radiaciones ionizantes inducen la misma cromosopatía, no obstante, la frecuencia de cada tipo de alteración citogenética y su distribución por célula depende de la dosis, la tasa de dosis y de la LET de la radiación. Las radiaciones de baja LET realizan una deposición de energía dispersa, en cambio, las de alta LET interaccionan densamente con el medio, por lo que inducen más ionizaciones y más concentradas en unas células que en otras. La frecuencia de dicéntricos por célula, en relación con la dosis adsorbida, sigue un modelo lineal cuadrático: $Y = C + \alpha D + \beta D^2$ donde Y corresponde a la frecuencia de dicéntricos, C es la frecuencia basal de dicéntricos, D es la dosis, α y β son los coeficientes lineal y cuadrático, respectivamente, obtenidos del análisis estadístico. De acuerdo con la teoría clásica, para la formación de un dicéntrico se necesitan dos roturas, una en cada uno de los cromosomas implicados en la reorganización. El término lineal (αD) representa la inducción de las dos lesiones por una



única trayectoria ionizante, mientras que el término cuadrático (βD^2) representa la inducción de las dos lesiones por dos trayectorias diferentes. El factor α varía según la calidad de la radiación, siendo superior para radiaciones de alta LET. Para radiaciones de baja LET, el factor β depende de la tasa de dosis a medida que sube la LET el factor β tiende a desaparecer y la relación entre dicéntricos y dosis, a ser lineal. Se considera que para cubrir la mayoría de las situaciones de aplicación de la dosimetría biológica, es necesario disponer de curvas dosis – efecto para rayos X, rayos gama y neutrones.¹⁴⁻²³ Las curvas dosis - efecto permiten estimar la dosis absorbida a cuerpo entero de la persona expuesta, a partir del análisis de la frecuencia de las aberraciones cromosómicas. La dosis mínima detectable depende del número de células observadas y de la dosis basal de la población, del orden de 0,1 Gy cuando se observan 500 células.¹⁴⁻²³

Otros biomarcadores citogenéticos

Además de los cromosomas dicéntricos, se cuenta con otros indicadores biológicos para la identificación de exposición a la radiación ionizante en humanos. Estos marcadores idealmente deben ser específicos de exposición a radiación ionizante, pero muchos de los marcadores disponibles pueden ser afectados por la edad, el fumado u otras toxinas ambientales.¹³ El ensayo de micronúcleos tiene varias ventajas con respecto al ensayo de dicéntricos, requiere menos especialización y capacitación del laboratorista, es más rápido y puede aplicarse para monitorear poblaciones grandes. Sin embargo, es menos específico que el ensayo de dicéntricos, y los micronúcleos pueden ser inducidos por una gama de otros clastógenos, incluyendo nicotina, pesticidas, agroquímicos y otros agentes químicos.²⁴⁻²⁶ Los micronúcleos inducidos por la radiación representan fragmentos acéntricos producto de cromosomas que se fracturan.²⁷

Otro ensayo provechoso para detectar daño radiactivo en células en interfase, es el llamado condensación cromosómica prematura. El método clásico utiliza la fusión de las células a ensayar con células mitóticas, las cuales transmiten una señal para que se disuelva la membrana nuclear y provocan la condensación de los cromosomas en interfase, como si se estuvieran preparando para entrar en mitosis. Si hay fracturas presentes en los cromosomas en interfase, se verán fragmentos adicionales a los 46 cromosomas esperados. La cantidad de fragmentos correlaciona positivamente con la cantidad de exposición a la radiación.¹⁴ Actualmente, se prefiere utilizar métodos de fusión celular más sencillos como la inducción química.^{14,28}

Una desventaja evidente de los ensayos de dicéntricos y de micronúcleos, es que el daño que revelan es inestable y, por lo tanto, se elimina de los linfocitos de la sangre periférica a la tasa en que ocurre la renovación celular. Por este motivo, es necesario analizar un tipo más persistente de daño cromosómico, como las translocaciones, las cuales son estables, para abordar la biodosimetría en casos de exposiciones antiguas o de largo curso. El análisis de translocaciones, aunque se puede hacer mediante cariotipo convencional, resultaría muy laborioso. Es por esto que se prefiere usar métodos de citogenética molecular como la hibridación *in situ*

fluorescente para estos efectos. En el cuadro 1 se comparan los biomarcadores más comunes.^{28,29}

¿Cuándo utilizar la dosimetría biológica?

Los accidentes de irradiación implican a todas las categorías de la población, público y trabajadores. La dosimetría biológica ayuda a definir el estado del paciente, como complemento de la dosimetría física (dosímetro) y el reconocimiento médico. Es particularmente útil para aquellas personas susceptibles de haber sido irradiadas y no llevar puesto el dosímetro en el momento de la exposición. Su papel principal es verificar si la exposición se ha producido. Luego, si la exposición es comprobada, se estima la dosis recibida en función del tipo de radiación. Cuando se investigan accidentes por radiación, es importante estimar la dosis recibida por las personas expuestas, por varios motivos:

- g. en el caso de exposiciones altas (agudas, > 1 Gy), para determinar el tratamiento médico y anticiparse a las secuelas que pueden aparecer semanas o meses después,
- h. cuando la exposición está bajo el nivel que requiere tratamiento, para que el médico pueda aconsejar a la persona acerca del riesgo de desarrollar enfermedades estocásticas tardías, tales como cáncer,
- i. si la exposición es muy baja (< 50 mGy), saber que el daño cromosómico no se ha elevado significativamente, puede ser un gran alivio para las personas expuestas.³¹⁻³³

El análisis de alteraciones cromosómicas de tipo inestable (dicéntricos y anillos) es considerado el método de dosimetría biológica más específico y sensible, y además con valor médico – legal.³⁰⁻³⁵

Situación en Costa Rica

En Costa Rica se cuenta con un laboratorio de dosimetría externa en el Centro de Investigación en Ciencias Atómicas, Nucleares y Moleculares de la Universidad de Costa Rica (CICANUM), a cargo de la Dra. Patricia Mora, para radiación gama, rayos X y neutrones, que brinda servicios a más de 100 empresas y a la CCSS.

Sin embargo, no se cuenta con dosimetría biológica en el país, para la seguridad y protección radiológica apropiadas. Los dosímetros físicos pueden equivocar la dosis real de radiación o no estar disponibles en diversos incidentes radiológicos. Es importante determinar la respuesta biológica ante una dosis de radiación ionizante absorbida para poder predecir las consecuencias médicas del incidente. Se debe determinar, con el mayor grado de certeza disponible, la dosis absorbida y la fracción del cuerpo expuesta. Los parámetros que se usan para estimar la dosis y que permiten tomar decisiones clínicas apropiadas para cada paciente son: clínicos (los signos y síntomas prodrómicos), hematológicos (la caída en los linfocitos de la sangre periférica) y fundamentalmente citogenéticos (cromosomas dicéntricos y condensación cromosómica prematura, entre otros).³³

La dosimetría biológica es un componente rutinario de los programas de protección radiológica de muchos países.³¹ Es una

técnica que permite la determinación sistemática y estimativa del grado de exposición a las radiaciones ionizantes, mediante la valoración de los efectos biológicos ocasionados. Estos efectos son las alteraciones citogenéticas producidas en los linfocitos de la sangre periférica. La frecuencia de las aberraciones cromosómicas radio inducidas se relaciona con la naturaleza de la fuente de irradiación, la duración de la exposición y la tasa de dosis. En 1962 se realizó la primera dosimetría biológica basada en el daño cromosómico (dicéntricos) de los linfocitos de la sangre periférica, como consecuencia de la sobreexposición accidental a la radiación, de las víctimas de un accidente en la planta de producción de plutonio de Hanford, en el estado de Washington, E.U.A.⁴ Hoy, se acepta que es el método más fiable para estimar la dosis de radiación recibida. A raíz de la importancia creciente del análisis citogenético, en 1986 la OIEA estableció una metodología práctica estándar (Technical Report Series No. 260) que se actualizó en 2001 (Technical Report Series No. 405).¹⁴ Además, se dispone de estándares ISO para asegurar la calidad de los laboratorios dedicados a la dosimetría citogenética (ISO 19238:2004, ISO 21243:2008).^{36,37}

Actualmente se está desarrollando un proyecto conjunto entre el Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, y el Hospital San Juan de Dios, con el objetivo de explorar los efectos cromosómicos de la radiación en pacientes expuestos por razones terapéuticas y atendidos en este hospital. De igual modo, se hará la curva de calibración dosis – respuesta *in vitro* y se validará mediante la intercomparación con el Laboratorio de Dosimetría Citogenética del Centro para la Protección e Higiene de las Radiaciones de Cuba. El establecimiento de un servicio de dosimetría biológica centralizado en el INISA, Universidad de Costa Rica, permitirá cubrir una de las necesidades más sentidas, tanto nacionales como regionales, en materia de protección radiológica.

Conflicto de interés: ninguno.

Colaboradores: Dr. Hugo Recinos Pineda, M.Sc. Marvin Rodríguez González, Diplom. Áurea López Castro, todos pertenecientes al Servicio de Radioterapia del Hospital San Juan de Dios, y la estudiante de licenciatura en Biología, Claudia Fernández Barrero.

Referencias

1. Wrixon AD, Barraclough I, Clark MJ. Radiation, people and the environment. IAEA/PI/A.75/04-00391. Division of Radiation and Waste Safety. Austria, 2004.
2. International Atomic Energy Agency (IAEA). Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students. Training Course Series No. 42. Vienna, 2010.
3. Preston RJ. Radiation biology: concepts for radiation protection. Health Phys. 2005; 88: 545-56.
4. Hall EJ, Giaccia AJ. Radiobiology for the Radiologist. 6th ed. Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
5. Rothkamm K, Krüger I, Thompson LH, Löbrich M. Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle, Mol Cell Biol 2003; 23:5706–5715.
6. Henry Ford Health System. Radiation Safety Office. Radiation Biology 2001. Disponible en el URL <http://radiologyresearch.org/>
7. International Atomic Energy Agency, (IAEA) Accidental Overexposure of Radiotherapy Patients in San José, Costa Rica, STI/PUB/1027, IAEA, Vienna, 1998. Disponible en el URL: <http://www-pub.iaea.org/books/IAEABooks/4727/Accidental-Overexposure-of-Radiotherapy-Patients-in-San-Jos-Costa-Rica>
8. Roy L, Gregoire E, Durand V, Buard V, Delbos M, Paillole N, *et al.* Study of the tools available in biological dosimetry to estimate the dose in cases of accidental complex overexposure to ionizing radiation: the Lilo accident. Int J Radiat Biol 2006; 82: 39-48.
9. Wojcik A, Gregoire E, Hayata I, Roy L, Sommer S, Stephan G, *et al.* Cytogenetic damage in lymphocytes for the purpose of dose reconstruction: a review of three recent radiation accidents. Cytogenet Genome Res 2004; 104: 200-205.
10. International Atomic Energy Agency (IAEA). Accidental overexposure of radiotherapy patients in Bialystok. Apéndice I: Radiation effects in humans. Vienna 2004. Disponible en: el URL: http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Pub1180_web.pdf
11. Fucic A., Brunborg G., Lasan R., Ježek D., Knudsen LE, Merlo DF. Genomic damage in children accidentally exposed to ionizing radiation: a review of the literature. Mutat Res. Reviews in Mutation Research 2008; 658: 111-123. Disponible en el URL: <http://www.elsevier.com/locate/issn/1383-574> <http://www.sciencedirect.com/science/journal/13835742> <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.11.003>
12. Pérez MR, Valverde N, Sanhueza S, Cárdenas J. Development of cross-border network in Latin America. Symposium on Awareness Enhancement and Confidence Building on Emergency Medical Preparedness in Japan and Asia, 16 November 2006, University of Tokyo, Japan.
13. Amundson SA, Bittner M, Meltzer P, Trent J, Fornace AJ. Biological indicators for the identification of ionizing radiation exposure in humans. Expert Rev Mol Diagn 2001; 1: 89-97.
14. International Atomic Energy Agency (IAEA). Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A manual. Technical Report Series No. 405. Vienna 2001.
15. Senthamizhchelvan S, Pant GS, Rath GK, Julka PK, Nair O, Joshi RC, *et al.* Biodosimetry using chromosome aberrations in human lymphocytes. Radiat Protect Dosimetry 2007, 123: 241–245 doi:10.1093/rpd/ncl109
16. Venkatachalam P, Paul SFD, Kaur H, Jeevanram RK. Standardization and Validation of cytogenetic Markers to Quantify Radiation Absorbed Dose. Def Sci J 2011, 61:125-132.
17. Sreedevi B, Rao BS, Nagaraj H, Pal NK. Chromosome aberration analysis in radiotherapy patients and simulated partial body exposures: Biological dosimetry for non-uniform exposures. Radiat Protect Dosimetry 2001; 94: 317–322.
18. Barrios L, Caballón MR, Miró R, Fuster C, Guedea F, Subias A, Egozcue J. Cytogenetic effects of radiotherapy: frequency and types of chromosome aberrations. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1999; 19: 371-375.
19. Barquinero JF, Barrios L, Caballón MR, Miró R, Ribas M, Subias A, Egozcue J. Establishment and validation of a dose-effect curve for γ -rays by Cytogenetic analysis. Mutat Res 1995; 326: 65-69.
20. Kanda R. Improvement Of Accuracy Of Chromosome Aberration Analysis For Biological Radiation Dosimetry. J Radiat Res 2000; 41: 1-8.

21. Montoro A, Rodríguez P, Almonacid M, Villaescusa JI, Verdú G, Caballín MR, Barrios L, Barquinero JF *et al.* Biological dosimetry in a group of radiologists by the analysis of dicentric and translocations. *Radiat Res* 2005; 164: 612-617.
22. Senthamizhchelvan S, Pant GS, Rath GK, Julka PK, Nair O, Prabhakar R, Malhotra A. Biological estimation of dose in hemi-body irradiation of cancer patients by cytogenetic analysis. *Hlth Phys* 2008; 94: 112-117.
23. Ainsbury EA, Lloyd DC. Dose estimation software for radiation biodosimetry. *Hlth Phys* 2010; 98:290-295.
24. Ramírez V, Cuenca P. Evaluation of micronucleus frequency in lymphocytes of individuals occupationally exposed to pesticides. *Rev Biol Trop* 2001; 49: 1-8.
25. Castro R, Ramírez V, Cuenca P. Análisis de micronúcleos y otras anomalías nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Rev Biol Trop* 2004; 52: 611-621.
26. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc* 2007; 2: 1084-1104.
27. Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in Radiation biodosimetry. *Hlth Phys* 2009; 98: 234-243.
28. Tsuji S, Kanda R. Chemically induced premature chromosome condensation in short term cultured human peripheral lymphocytes: applications to biodosimetry. *Biotech Histochem* 2007; 82: 29-34.
29. Duran M, Barquinero JF, Caballín MR, Ribas M, Barrios L. Persistence of radiation-induced chromosome aberrations in a long-term cell culture, *Radiat Res* 2009; 171: 425-437.
30. Sevan>kaev AV, Lloyd DC, Edwards AA, Khvostunov IK, Mikhailova GF, Golub EV, *et al.* A cytogenetic follow-up of some highly irradiated victims of the Chernobyl accident. *Radiat Prot Dosimetry* 2005; 113: 152-161. doi: 10.1093/rpd/nch435.
31. International Atomic Energy Agency (IAEA). Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna, 2011.
32. Armed Forces Radiobiology Research Institute. Medical management of radiological casualties. Handbook. 2nd ed., Bethesda, Maryland 2003.
33. International Atomic Energy Agency, World Health Organization, Generic procedures for medical response during a nuclear or radiological emergency, EPR-MEDICAL, IAEA, Vienna 2005.
34. Prasanna PGS, Martin PR, Subramanian U, Berdychevski R, Krasnopolsky K, Duffy KL, *et al.* Cytogenetic biodosimetry for radiation disasters: recent advances. NATO RTG-099 2005.
35. Ainsbury EA, Barquinero JF. Biodosimetric tools for a fast triage of people accidentally exposed to ionising radiation: statistical and computational aspects. *Ann Ist Super Sanita* 2009; 45: 307-12.
36. International Organization For Standardization, Radiation Protection-Performance Criteria for Service Laboratories Performing Biological Dosimetry by Cytogenetics, ISO 19238, ISO, Geneva 2004.
37. International Organization For Standardization, Radiation Protection-Performance Criteria for Laboratories Performing Cytogenetic Triage for Assessment of Mass Casualties in Radiological or Nuclear Emergencies-General Principles and Application to Dicentric Assay, ISO 21243, ISO, Geneva 2008.

Fe de erratas:

Se aclara que el artículo titulado: Ventilación con liberación de presión en la vía aérea, en neonatos con insuficiencia respiratoria aguda, publicado en la revista Vol 55, No. 2, página 92, el orden correcto de los autores es el siguiente: Enmanuel Jiménez-Castro, Olman Coronado-García, Leonardo Orozco-Saborío y Alicia Boza-Mora.