

CUADERNOS PARA UNA HISTORIOGRAFÍA DE LA PROTECCIÓN RADIOLÓGICA EN ESPAÑA

LA RADIOBIOLOGÍA Y LA DOSIMETRÍA BIOLÓGICA



CRÉDITOS

© Sociedad Nuclear Española

Edita: SOCIEDAD NUCLEAR ESPAÑOLA (SNE)

Diseño y maquetación: Grupo SENDA

ISBN: 978-84-09-59230-2

HISTORIOGRAFÍA DE LA PROTECCIÓN RADIOLÓGICA EN ESPAÑA

La Sociedad Nuclear Española (SNE) y la Sociedad Española de Protección Radiológica (SEPR) editan esta publicación dirigida a sus socios, profesionales del sector, mundo de la docencia, historiadores y lectores interesados, que tiene como objetivo informar y divulgar la historia, la organización y el desempeño alcanzado en la Protección Radiológica (PR) en España.

Con este fin y para cubrir un campo del saber tan complejo y extenso que afecta a la ciudadanía y que involucra a la administración del estado, la medicina, la industria, los servicios y la docencia, en sus ámbitos públicos y privados, se ha recabado la participación de más de un centenar de profesionales que desempeñan o han desempeñado puestos de responsabilidad o que destacan o han destacado en su ejercicio.

La publicación en formato electrónico está articulada, primeramente, mediante cuadernos, con los artículos de los autores, que se irán incorporando a la misma atendiendo a las distintas áreas temáticas en las que se ha estructurado la publicación:

1. Introducción
2. Desarrollo histórico de la protección radiológica en España
3. Historia de la organización de la protección radiológica
4. Evolución de la regulación de la protección radiológica
5. La protección radiológica operacional en el sector industrial
6. La protección radiológica operacional en el sector sanitario
7. La protección radiológica ambiental.
8. La protección radiológica en accidentes y emergencias
9. Aspectos específicos de la protección radiológica en España.

Esta publicación electrónica está disponible tanto en la página web de la SNE como en la página web de la SEPR.

LA RADIOBIOLOGÍA Y LA DOSIMETRÍA BIOLÓGICA

Almudena Real (CIEMAT), **Joan Francesc Barquinero** (UAB),
Alegría Montoro (HULaFe) y **M^a Jesús Prieto** (HGUGM)

En este cuaderno se describe la historia de la aportación española al conocimiento de los efectos biológicos producidos por las radiaciones ionizantes y a la dosimetría biológica, relatando los trabajos de investigación que se han llevado a cabo en centros de I+D, hospitales y universidades españolas desde la década de los 70.

La radiobiología

La radiobiología es la ciencia que estudia los efectos que produce la radiación ionizante en los seres vivos. Es decir, es una disciplina que estudia la respuesta biológica, los mecanismos y las modificaciones y/o lesiones que se producen a nivel molecular, celular, de tejido, órgano y organismo, tras la exposición a radiación ionizante.

Los estudios de radiobiología comprenden un extenso campo de investigación multidisciplinario que abarca ciencias como la física, química, biología y medicina, entre otras. Desde sus inicios, las razones que impulsaron la investigación de los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes incluían estudios en protección radiológica y radioterapia. Hoy en día la radiobiología tiene un futuro prometedor debido a la ampliación de las aplicaciones vinculadas a investigaciones básicas y aplicadas en diversas disciplinas, que incluyen aplicaciones clínicas (en especial aspectos relacionados con diagnóstico y tratamientos oncológicos, biología tumoral y biología celular), aplicaciones biotecnológicas, ambientales y espaciales, entre otras.

Las investigaciones en radiobiología en España comenzaron en los



Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (antigua Junta de Energía Nuclear).

años 70 en la antigua *Junta de Energía Nuclear*, actualmente el *Centro de Investigaciones Energéticas Medio Ambientales y Tecnológicas* (CIEMAT), si bien hasta los años 80 no hay registros de las investigaciones realizadas. Dichas investigaciones finalizaron en el año 2008. A principios de la década de los 80 el *Grupo de Radiobiología de la Universitat Autònoma de Barcelona* y a finales de esa década el *Grupo de Cultivo Celular y Radiobiología de la Universidad de Sevilla*, comenzaron a realizar estudios de radiobiología, actividad que continúa en la actualidad. En la década de los 90 otros siete grupos españoles comenzaron a investigar en esta área, actividad que todos ellos continúan realizando actualmente, dichos grupos son: *Oncología e Inmunología Molecular de la Universidad de Granada*; *Centro Oncológico de Galicia y Complejo Hospitalario Juan Canalejo (hoy Complejo Hospitalario Universitario A Coruña)*; *Investigación de Radiología Experimental de la Universidad de Murcia*; *Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid*; *Investigación en Integridad Genómica de la Universitat Autònoma de Barcelona*; *Genética Susceptibilidad en Cáncer y en Enfermedades Psiquiátricas de la Universidad Autónoma de Madrid*; e *Investigaciones Médicas de la Unidad de Radiofísica del Hospital Universitario Clínico San Cecilio de Granada*.



Laboratorio del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de Valencia.

A comienzos de los 2000 se suman dos nuevos grupos españoles a las investigaciones en radiobiología, el del *Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia* y el de la *Universitat Rovira i Virgili de Tarragona*.

Además de los centros mencionados, diversas instituciones nacionales y europeas han tenido un importante papel en las investigaciones realizadas en radiobiología en España al cofinanciar proyectos de I+D+i en esta área. A nivel nacional cabe destacar el importante papel del Consejo de Seguridad Nuclear (CSN), que en sus planes de I+D ha incluido durante décadas a la radiobiología. También mencionar la financiación aportada por diferentes Ministerios de España, entre los que se incluyen el Ministerio

de Educación y Ciencia, Ministerio de Economía y Competitividad, Ministerio de Ciencia e Innovación, o la Agencia Estatal de Investigación creada en 2015. A nivel europeo cabe mencionar la financiación de EURATOM a través de los Programas Marco y los programas Horizonte 2020 y Horizonte-Europa de la Comisión Europea.

La Sociedad Española de Protección Radiológica (SEPR) ha jugado un papel importante en la historia de la radiobiología en España, promoviendo y organizando actividades de formación en esta área para profesionales, estudiantes postgrado y jóvenes investigadores. Así, la SEPR en colaboración con el CIEMAT organizó en 1998 la primera edición del curso Avances en Radiobiología, con ediciones posteriores en 2007 y 2012.

En la década de los 90 otras organizaciones realizaron eventos sobre radiobiología. En 1991 se celebra la 1ª edición del Curso *Teórico-Práctico sobre Radiobiología Clínica*, organizado por los Dres. Pedraza y Ruiz de Almodóvar de la Universidad de Granada, a través de la Asociación Española de Radioterapia y Oncología. En 1997 se celebra en Sevilla la *Conferencia internacional sobre bajas dosis de radiación: sus efectos biológicos y su control regulador*, organizada por la OIEA y la OMS en cooperación con UNSCEAR, con el objetivo de fomentar el intercambio de información sobre los efectos biológicos y los efectos en la salud de dosis bajas de radiaciones ionizantes, en el que hubo una amplia representación española.

La Universidad de Granada incluye la asignatura de Radiobiología en el *Máster de Avances en Radiología Diagnóstica y Terapéutica y Medicina Física*, (desde 2004) y el *Master de Física* (desde 2014).

Desde 2004 se celebra anualmente en Baeza el curso *Fundamentos de Física Médica*, con la colaboración de la Sociedad Española de Física Médica y la Universidad Internacional de Andalucía. En el curso se imparte un Módulo de Radiobiología en el que participan especialistas en radiofísica del Hospital Clínico San Cecilio de Granada.

En 2011, el CSIC-UAM con el apoyo del CSN, organiza una jornada para constituir una Plataforma nacional de estudios de dosis bajas de radiación ionizante. En esta jornada se presenta la plataforma europea MELODI (*Multidisciplinary European Low Dose Initiative*) en la que participan un gran número de grupos españoles (Centro oncológico de Galicia, CREAL, UAB, UAM, URV, entre otros). Ese mismo año el CREAL (actualmente ISGlobal) organiza una jornada en la que muchos grupos de España que trabajan en radiobiología y en dosimetría biológica dan a conocer sus proyectos de I+D.

En 2014 se crea la Plataforma Nacional de I+D en Protección Radiológica (PEPRI), en la que existe un grupo de trabajo temático sobre radiobiología y epidemiología, centrado en el estudio de los efectos de las radiaciones, la epidemiología y la radiobiología clínica.

Historiografía de la radiobiología en España

A pesar de que en la **Junta de Energía Nuclear** se realizaron estudios sobre los efectos de la radiación ionizante en la década de los 70, como por ejemplo sobre el ritmo circadiano de peces, no hay registros de estas investigaciones. Es a partir de los años 80, tras la creación del actual **Centro de Investigaciones Energéticas Medio Ambientales y Tecnológicas (CIEMAT)**, cuando quedan registradas las investigaciones realizadas en Radiobiología por diferentes grupos, los cuales se describen a continuación.

En la década de los 80 y 90, el grupo de **Estudios de efectos biológicos de agresores ambientales**, dirigido inicialmente por el Dr. Gabriel Maganto y posteriormente por el Dr. Juan Antonio Bueren, estudió los efectos de las radiaciones ionizantes en el sistema hematopoyético. Así, se investigó el comportamiento de diferentes precursores hematopoyéticos tras exposición a radiación ionizante en distintos estadios del desarrollo (en útero, neonatos, adultos) utilizando modelos murinos y técnicas de biología celular y molecular. Se prestó especial atención a los parámetros que podían modificar la sensibilidad de dichos precursores, tales como el estado de desarrollo del organismo o la inmunodepresión (Grande, 1988). Entre los años 1986 y 1995, en colaboración con los Laboratorios Andrómaco S.A., se investigaron sustancias radioprotectoras de diversa naturaleza. Para ello se utilizaron modelos experimentales de ratón analizando la capacidad de dichos compuestos para estimular y/o proteger el sistema hematopoyético tras exposición a radiación ionizante (Real, 1992).

Entre los años 1995 y 1999 el grupo de **Análisis de riesgos: Carcinogénesis ambiental**, del CIEMAT, dirigido por la Dra. Rosa de Vidania, investigó la implicación de los mecanismos de reparación del ADN en el riesgo carcinogénico de dosis bajas de radiación ionizante. Además, bajo la dirección de la Dra. Almudena Real, se estudiaron los mecanismos carcinogénicos implicados en el desarrollo de anomalías hematológicas irreversibles tras exposiciones a dosis bajas de radiación ionizante. Se implementó un modelo experimental de ratones deficientes en el gen supresor de tumores p53, que permitió estudiar los mecanismos celulares y moleculares implicados en el desarrollo de cánceres hematológicos radioinducidos y analizar la idoneidad de diversos marcadores de diferenciación como indicadores tempranos de dichos cánceres (Casado y col., 1997).

A principios de los 2000, el **Grupo de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes** del CIEMAT, dirigido por el Dr. Antonio Delgado, realizó estudios de la eficacia biológica relativa de distintos tipos de radiaciones ionizantes para inducir daño cromosómico, utilizando cultivos primarios de células de ratón y líneas celulares. En esos años, bajo la dirección de la Dra. Almudena Real, se investigaron los genes que determinaban la predisposición individual a cáncer de tiroides radioinducido, utilizando un modelo de ratón de cáncer de tiroides inducido por I-131 y métodos de análisis de genética molecular.

Grupo de Radiobiología de la Universitat Autònoma de Barcelona, dirigido en sus inicios por la Dra. María Rosa Caballín y tras su jubilación por el Dr. Joan Francesc Barquiner, inició a finales de los años 70 los estudios del efecto citogenético de las radiaciones ionizantes para evaluar si las reorganizaciones cromosómicas radioinducidas en muestras de sangre humana, de chimpancé y de gorila podían explicar la filogenia cromosómica de estas especies. Posteriormente los estudios se centraron en pacientes de cáncer, evaluando el efecto citogenético de la radioterapia en linfocitos de sangre periférica, mostrando los resultados obtenidos que las alteraciones cromosómicas se concentraban en lugares determinados del cariotipo humano (Barrios y col., 1989). En la década de los 90, se evaluó la presencia de alteraciones cromosómicas en trabajadores del ámbito hospitalario expuestos ocupacionalmente a las radiaciones ionizantes (Barquiner y col., 1993). En esa misma década se realizaron estudios en los que se determinó que el fenómeno de la respuesta adaptativa, descrito anteriormente in vitro en diversos modelos celulares, también se podía observar en individuos ocupacionalmente expuestos. La aparición de las técnicas de pintado cromosómico mediante hibridación in situ fluorescente (FISH), permitió describir por primera vez la relación entre el contenido de ADN en cada cromosoma humano y su implicación en las alteraciones cromosómicas radioinducidas, así como reevaluar el efecto citogenético tras exposiciones ocupacionales a dosis bajas.

A principios de los 2000, el grupo realizó estudios sobre aspectos fundamentales en la radiobiología como es la eficacia biológica relativa, evaluando los efectos biológicos producidos por partículas alfa de Am-241, así como por fotones de baja energía como los utilizados en las mamografías (Mestres y col., 2008). En la primera década de los 2000 se realizaron diversos estudios sobre la dinámica de las alteraciones cromosómicas a lo largo del ciclo celular, lo que permitió entender mejor el origen y evolución de éstas. Recientemente, utilizando técnicas de condensación prematura de cromosomas, se observó que la mayoría de las anomalías cromosómicas se forman durante los primeros 30 minutos post-irradiación, y que las roturas que se reparan después tienden a restablecer los cromosomas originales. La línea de investigación en radiobiología de este grupo ha incorporado estudios de genómica, evaluando la modificación de la expresión génica a dosis muy bajas y la expresión génica diferencial en una línea celular linfoblastoide radiosensible y una radiorresistente. Mediante técnicas de genética molecular también se han evaluado los polimorfismos de genes implicados en la reparación del ADN que confieren un mayor riesgo de desarrollar neoplasias mieloides después de recibir un tratamiento de radio o quimioterapia.

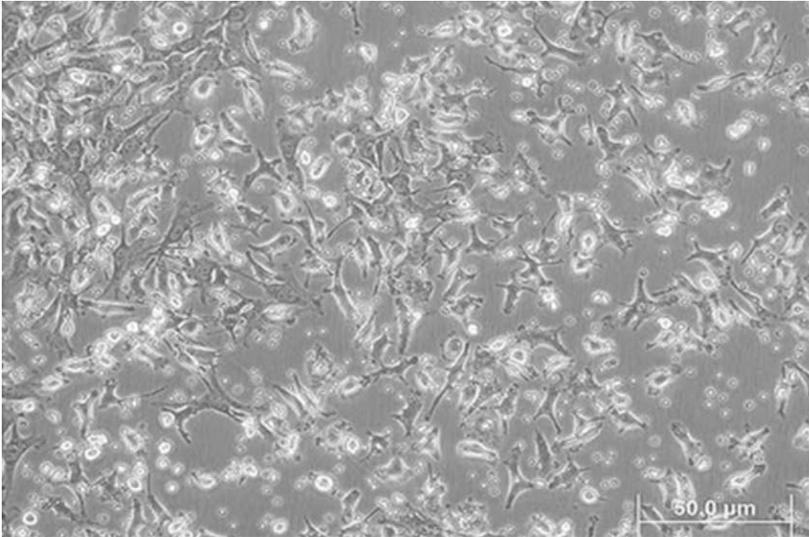
Actualmente el grupo se ha centrado en estudiar biomarcadores de toxicidad a la radioterapia, así como en la búsqueda de polimorfismos genéticos que confieran un mayor riesgo de desarrollar cáncer después de un tratamiento con radioterapia.

El Grupo de Cultivo Celular y Radiobiología de la Universidad de Sevilla, dirigido en sus inicios por el Dr. Felipe Cortes y actualmente por el Dr. Santiago Mateos, comenzó a realizar estudios en radiobiología a finales de 1980. Destacan los estudios realizados sobre la respuesta adaptativa inducida en linfocitos humanos mediante un pretratamiento radio-mimético con un generador de daño oxidativo como es el H_2O_2 (“acondicionamiento”) y una posterior irradiación (“desafío”) con rayos X. Se observó una reducción evidente en el daño cromosómico inducido por rayos X cuando se administraba un pulso de H_2O_2 de 30 min a 24 h después de preparar los cultivos, los cuales fueron irradiados con rayos X a las 48 h de su preparación. No observaron ningún efecto cuando las células se sometían a exposiciones repetidas de H_2O_2 antes de la irradiación (Cortes y col., 1990).

En los años 90 se estudiaron los aspectos básicos y aplicados de las aberraciones cromosómicas inducidas por radiación en células humanas y de otros mamíferos. Así, se estudiaron las frecuencias de las aberraciones cromosómicas inducidas por diferentes dosis de rayos X en esplenocitos y fibroblastos pulmonares primarios de hámster chino mediante FISH bicolor, utilizando una combinación de cuatro bibliotecas de ADN específicas de cromosomas. Los resultados mostraron que los rayos X inducían más translocaciones que dicéntricos en células de hámster chino, en las que el cariotipo se compone de cromosomas metacéntricos y acrocéntricos, lo que apoyaba la importancia de las características cariotípicas de una especie en la inducción relativa de translocaciones y dicéntricos (Domínguez y col, 1996). También se analizaron aspectos aplicados del estudio del daño en el ADN, incluyendo el estudio de la respuesta adaptativa y de la optimización del efecto citostático de la radiación ionizante en cultivos celulares de mamíferos. Así mismo, se realizaron actividades de investigación dirigidas a conocer la estructura de la cromatina y la reparación del ADN en relación con las aberraciones cromosómicas inducidas por radiación ionizante en células de mamíferos.

Las topoisomerasas de ADN, enzimas implicadas en la replicación de esta molécula, juegan un papel esencial en la supervivencia celular, por lo que el uso de inhibidores catalíticos de estas enzimas podría mejorar la eficacia de la radiación para reducir la supervivencia celular. Así, el grupo investigó la capacidad de dos catalizadores inhibidores de la topoisomerasa II (ICRF-193 y Aclarubicin), para modular la respuesta a la radiación en la línea celular de hámster chino V79 y su mutante radiosensible *irs2*. Los resultados demostraron que la combinación de inhibidores catalíticos de topoisomerasa II y radiación produce un aumento en la muerte celular radioinducida. Este aumento en la eficacia de la radiación puede implicar una acción directa o indirecta de la topoisomerasa II en la reparación del daño en el ADN inducido por radiación (Mateos y col., 2006). Destacar la inestimable colaboración del profesor Juan Carlos Mateos para la consecución de los logros alcanzados por el grupo en el ámbito de la Radiobiología.

El Grupo de Oncología e Inmunología Molecular de la Universidad de Granada, dirigido por el Dr. José Mariano Ruiz de Almodóvar, comenzó a realizar estudios de radiobiología a principios de los 90. Sus primeros trabajos permitieron demostrar que la acción directa de la radiación ionizante sobre células humanas se puede cuantificar mediante la cantidad de rupturas dobles de la cadena de ADN que la radiación produce por unidad de dosis y unidad de ADN (*rdcADN*). Se observó que *rdcADN* se correlaciona de manera estadísticamente significativa con la supervivencia celular tras irradiación, lo que permitió concluir que las células más radiosensibles sufren mayor cantidad de *rdcADN* (Ruiz de Almodovar y col., 2002). Así mismo, se observó



Cultivo de larga duración de médula ósea de ratón. Tras una semana de cultivo comienza a formarse el estroma (células fusiformes), sobre el que crecen las células hematopoyéticas (forma ovalada o circular). Imagen realizada con microscopía de contraste de fase.

implantados en las patas traseras de modelos murinos de experimentación, permitieron postular que con la combinación terapéutica *RT + CMT* se consigue la radiosensibilización tumoral y la potenciación de los efectos sistémicos de la radioterapia, aumentando tanto los efectos vecindad (*bystander*) de corto y largo alcance como el efecto abscopal asociado a la radioterapia oncológica. En relación al efecto vecindad que se produce lejos del volumen terapéutico, los estudios del grupo demostraron qué como intermediarios en la propagación de la acción de la radiación, intervienen proteínas y exosomas liberados por las células mesenquimales cuando eran activadas por una irradiación *in vitro* o por la misma radiación que se administraba como tratamiento al tumor (de Araujo y col., 2018). Suponiendo que la radiosensibilización tumoral y el efecto tumoricida a distancia son mecanismos independientes, propusieron un modelo teórico en el que la supervivencia final de las células tumorales en un paciente con cáncer tratado con la combinación *RT + CMT*, era el producto de la fracción de células que sobreviven a la acción de la combinación terapéutica en el tumor primario, multiplicada por la fracción de células que sobreviven a las acciones de vecindad (en el entorno del volumen terapéutico) y abscopal (a mayor distancia del volumen terapéutico) (de Araujo y col., 2018). Estos trabajos permitieron postular la siguiente hipótesis: “*la combinación terapéutica RT y CMT mejorará de manera sustancial los resultados que ofrece el tratamiento exclusivo con RT*”. El grupo ha solicitado la autorización para el uso clínico de las células mesenquimales activadas por irradiación, en un ensayo clínico fase II, a la Agencia Española del Medicamento y el Producto Sanitario (abril 2022).

El Centro Oncológico de Galicia y el Complejo Hospitalario Juan Canalejo, hoy Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, dirigido en sus inicios por el Dr. Vicente J. Goyanes y desde principios de los 90 por el Dr. José Luis Fernández, ha trabajado en radiobiología desde los años 70. Fue en 1970 cuando el Dr. Goyanes pre-

que el número de *rdCADN* en los linfocitos de pacientes que sufren efectos secundarios severos tras recibir radioterapia, es más alto que el encontrado en los linfocitos de las personas que no sufren efectos secundarios o los sufren en grado inapreciable o mínimo (López y col., 2005). Sin embargo, las diferencias estadísticas entre ambos grupos no fueron lo suficientemente sólidas como para poner en marcha un programa de estratificación de la radioterapia, en el que las dosis a administrar estuvieran determinadas por la radiosensibilidad intrínseca de cada paciente.

Trabajos más recientes, utilizando la combinación de radioterapia (*RT*) y de células mesenquimales troncales (*CMT*) obtenidas del estroma del cordón umbilical y usadas conjuntamente con la *RT* en el tratamiento de xenotumores

sentó su tesis doctoral *Influencia de la radiación sobre la estructura cromosómica en mamíferos*, siendo pionero en introducir las técnicas citogenéticas en humanos en España, ya que la tesis fue uno de los primeros trabajos experimentales sobre anomalías radioinducidas en cromosomas humanos, realizados en nuestro país. Desde los años 70, el grupo realizó estudios en animales sobre un factor plasmático radioinducido que podría pasar la placenta y afectar los cromosomas del feto, así como sobre posible radioprotección química en individuos expuestos ocupacionalmente a radiaciones ionizantes (Goyanes y col., 2001).

A principios de los 90, bajo la dirección del Dr. José Luis Fernández García, el grupo diseñó la técnica DBD-FISH (*DNA Breakage Detection-Fluorescence in situ Hybridization*) para el estudio del daño inducido por radiación en secuencias específicas del ADN. Mediante este procedimiento se determinó que las diferentes familias de secuencias de ADN satélite humano, organizadas en diferentes áreas de heterocromatina, muestran desiguales sensibilidades a la inducción de roturas por rayos X (Vázquez-Gundín y col., 2002). La conjunción del DBD-FISH con la técnica de cometa neutro permitió distinguir roturas radioinducidas de cadena simple y de cadena doble del ADN en el genoma global y en secuencias específicas de una misma célula. Esto también fue posible mediante una nueva técnica de cometa bidimensional.

Desde los años 90 el grupo trabaja en diferentes aspectos de la integridad del material genético. Colaborando con el Helmholtz Zentrum de Munich, se estableció que la haploinsuficiencia de Rb1 (una copia del gen se inactiva o elimina), involucrada en la inducción de osteosarcoma por exposición a radiaciones ionizantes, podría ejercer dicho efecto a través de la desregulación de la estructura y fisiología del telómero.

En cuanto a labor creativa e innovadora, además de la técnica DBD-FISH, el grupo diseñó el test SCD (*Sperm Chromatin Dispersion*) para determinar la frecuencia de espermatozoides con ADN fragmentado, que se distribuye en forma de kit comercial en todo el mundo. Además, desarrolló otras seis patentes internacionales, en relación con daño del ADN. Recientemente el grupo ha patentado un ensayo de PCR digital para cuantificar las roturas y fragmentación del ADN mitocondrial (Mosquera y col., 2021).

El Grupo de Investigación de Radiología Experimental de la Universidad de Murcia, dirigido por el Dr. Miguel Alcaraz se formó en 1991 con la intención de dedicarse a la radiobiología y a la protección radiológica en sus aplicaciones médicas. Su principal línea de investigación es el estudio de sustancias radioprotectoras que ha permitido identificar diferentes flavonoides (Alcaraz y col., 2022), polifenoles y diterpenos, habituales en la dieta humana, que protegen al ADN de las lesiones radioinducidas, poniendo especial atención a la relación entre la estructura química y su capacidad de genoprotección (Alcaraz y col., 2022). También han descrito un efecto paradójico de algunas sustancias radioprotectoras que se comportan como agentes radiosensibilizantes en células neoplásicas como el melanoma, describiendo nuevos mecanismos de acción que explicarían estas diferencias y que permitiría proteger a las células sanas lesionando solo las células tumorales cuando se encuentran dentro del mismo campo de irradiación (Olivares y col., 2020). Recientemente, han descrito la pérdida de esta capacidad genoprotectora en las células receptoras del efecto vecindad (*bystander*) inducido por radiación ionizante, permitiendo elucidar que entre las señales celulares efectoras no se encuentran los radicales libres directamente inducidos por la radiación (Olivares y col., 2021). Las técnicas más utilizadas son la determinación de micronúcleos *in vivo* sobre eritroblastos de médula ósea de ratón (Alcaraz y col., 2022) o sobre reticulocitos en sangre periférica, el ensayo de micronúcleos *in vitro* sobre linfocitos humanos irradiados y bloqueados citocinéticamente (Olivares y col., 2020), ensayos de supervivencia celular como el ensayo MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro) (Olivares y col., 2021), y el clonogénico, la determinación de glutatión intracelular (Olivares y col., 2020), diversas técnicas de imagen radiológica (μ TC,

mamografía y radiología digital) y algunas técnicas de microscopía óptica y electrónica. El futuro inmediato del grupo podría contemplar la automatización de estos ensayos citogenéticos, la búsqueda de mezclas de radioprotectores que se potencien a través de diferentes mecanismos de acción y la reducción del efecto vecindad en las células receptoras no expuestas a radiación ionizante. Todo ello buscando su aplicación clínica tanto en los pacientes como en los trabajadores profesionalmente expuestos a radiación ionizante.

El grupo del **Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid**, dirigido inicialmente por el Dr. Rafael Herranz, viene realizando estudios en radiobiología desde 1991. En ese año, conjuntamente con el Instituto Curie de París y la ENEA de Roma, comenzó a realizar estudios sobre los efectos de irradiaciones agudas localizadas, dirigidos por la Dra. Mercedes Moreno. En el año 1995, bajo la dirección del profesor Trott, se trabajó en el desarrollo de un método efectivo para obtener metafases de colonias individuales a partir de células en suspensión de hígado y médula ósea de ratón.

A finales de los años 90 y principios de los 2000 se realizaron estudios sobre el efecto de irradiaciones localizadas en pacientes de radioterapia. En el año 2012 el grupo comenzó a realizar estudios para estimar la dosis de exposición a radiaciones ionizantes gamma debida a la administración terapéutica de I-131 (Orcajo y col., 2015), así como estudios dirigidos a predecir la radiosensibilidad individual mediante análisis de roturas cromosómicas en linfocitos de sangre periférica en la fase G2 del ciclo celular, con objeto de determinar su posible aplicación clínica para pacientes de radioterapia (Moreno y col., 2018). Ambos estudios continúan desarrollándose en la actualidad.

El **Grupo de Investigación en Integridad Genómica de la Universitat Autònoma de Barcelona**, dirigido por la Dra. Anna Genescà, realiza estudios de radiobiología desde 1992. Su actividad investigadora se inició con estudios del efecto de la radiación ionizante en células germinales, realizándose tanto estudios *in vitro* en modelos celulares como estudios *in vivo* en modelos murinos y en población humana. El conjunto de estos estudios permitió definir de una manera precisa la sensibilidad de los distintos tipos de células de la línea germinal masculina y la transmisibilidad de los cambios inducidos en su genoma tras la exposición a radiación ionizante.

Posteriormente, la actividad investigadora se centró en dosis bajas de radiación. Se desarrollaron técnicas para detectar los efectos en el genoma de este tipo de exposiciones y se automatizó el análisis de indicadores de exposición a dosis bajas. Se estudió la sensibilidad de células y organismos a dosis bajas de radiación, demostrando que la presencia de telómeros excesivamente cortos en las células causaba una mayor radiosensibilidad. Esto podría contribuir a un aumento de sensibilidad en las personas de mayor edad entre la población adulta, como el que se ha descrito en niños. Además, se demostró que las dosis recibidas por la mama tras una sola exploración mamográfica indu-



Laboratorio del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de Valencia.

cían un aumento significativo en la frecuencia de roturas de doble cadena de ADN en las células epiteliales mamarias envejecidas *in vitro*, pero no en las jóvenes (Hernández y col., 2013a). Ello se debe a que las células envejecidas poseen vías de respuesta al daño en el ADN menos eficaces que las jóvenes (Hernández y col., 2013b). Actualmente, el grupo está desarrollando marcadores de exposición a dosis bajas de radiación e investiga el efecto de la edad en la susceptibilidad individual a cambios en el genoma tras exposición a dosis bajas por procedimientos médico-diagnósticos.

Las investigaciones realizadas por el grupo han permitido determinar que los mecanismos para restaurar la integridad del genoma de las células expuestas a radiación ionizante dependen de la rápida detección y señalización de las lesiones inducidas a fin de iniciar rápidamente el proceso de reparación y evitar la acumulación de extremos dañados capaces de resultar en la reparación ilegítima de los mismos. Tanto los defectos en la cinética de respuesta al daño en el ADN como la detección incompleta de las lesiones se traducen en una elevada radiosensibilidad e inestabilidad del genoma celular. Además, sólo las lesiones del material genético contenido en el núcleo celular son capaces de generar una respuesta correcta, mientras que aquellas que han quedado secuestradas en los micronúcleos son incapaces de reclutar eficientemente las proteínas necesarias para su reparación. Los micronúcleos, considerados hasta hace poco indicadores de inestabilidad genómica, emergieron tras los estudios del grupo como una importante fuente de inestabilidad e indicadores de daño (Repullés y col., 2019).

El Grupo de Genética Susceptibilidad en Cáncer y en Enfermedades Psiquiátricas de la Universidad Autónoma de Madrid, dirigido por el Dr. Javier Santos, comenzó en 1996 a realizar estudios de radiobiología, y ha acumulado una amplia experiencia en el estudio de las alteraciones genéticas asociadas al estudio de los linfomas linfoblásticos de células T (T-LBL), un tipo de trastorno hematológico muy agresivo derivado de células T inmaduras (timocitos) que afecta principalmente a niños y adolescentes, utilizando un modelo de ratón que desarrolla este tipo de tumores después de la exposición a dosis fraccionadas de radiación gamma (RITL, *γ -Radiation-Induced T-cell Lymphoblastic lymphoma*). Este modelo se basa en el uso de ratones F1 (primera generación) generados al cruzar dos cepas genéticamente diferentes, con el objetivo de identificar genes supresores de tumores mediante estudio de la pérdida de heterocigosidad de marcadores polimórficos de ADN en los tumores desarrollados en ratones F1 expuestos a radiación gamma. El desarrollo de dicho modelo permitió identificar un mapa de las alteraciones genéticas y epigenéticas subyacentes a la enfermedad y diseccionar sus consecuencias funcionales, identificando diferentes genes supresores y microRNAs que están alterados en los T-LBL (Santos y col., 1996).

En los años 2000, en colaboración con el Institut Pasteur de Paris, desarrollaron un nuevo modelo de ratón basado en la generación de cepas consómicas, las cuales se caracterizan porque se introduce un cromosoma entero (en vez de un segmento) en una cepa receptora por medio de retrocruzamientos. Para la creación del nuevo modelo se utilizaron cepas de ratón interespecíficas con una sensibilidad diferencial al desarrollo de los linfomas linfoblásticos radioinducidos, con el objetivo de identificar genes de sensibilidad y/o resistencia tumoral. El uso de este modelo permitió identificar un locus complejo en el cromosoma 19 del ratón que contenía simultáneamente un gen de resistencia (*Anxa1*) y otro de sensibilidad (*Cd274*) al desarrollo de los RITL, observándose que su papel se ejercía a través de las células del estroma tímico, resaltando la importancia del microambiente en el desarrollo tumoral (Santos y col., 2010).

La incidencia de RITL se ve significativamente reducida si los ratones se exponen a una dosis baja de radiación 6 horas antes de una exposición posterior a una dosis alta, un efecto fenotípico encuadrado en lo que se conoce

como respuesta radioadaptativa. El grupo desde 2010 se centró en investigar las bases genéticas de la exposición a un régimen adaptativo de radiación ionizante en timocitos de ratón. Un análisis transcriptómico de la respuesta radioadaptativa les permitió demostrar que había una expresión génica diferencial asociada al sexo en la respuesta radioadaptativa de los timocitos a la apoptosis mediada por el gen supresor de tumores Trp53. En 2022 el grupo publicó un artículo en el que disecciona a nivel molecular la respuesta radioadaptativa, demostrando una respuesta molecular diferencial en timocitos humanos y de ratón expuestos a un tratamiento combinado de radiación, en comparación con las exposiciones a una dosis única (alta o baja) (López-Nieva y col., 2022).

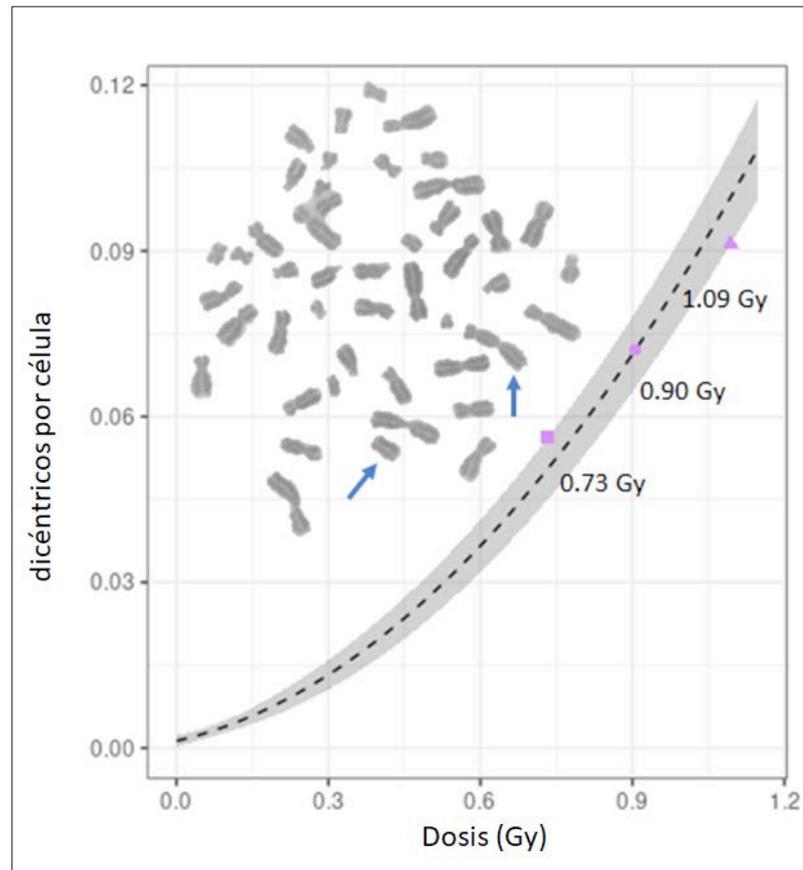
El **Laboratorio de Investigaciones Médicas de la Unidad de Radiofísica del Hospital Universitario Clínico San Cecilio de Granada**, dirigido por el Dr. Damián Guirado, desarrolló la colaboración con el Departamento de Radiología y Medicina Física y el Departamento de Física Atómica, Nuclear y Molecular del Hospital Universitario Clínico San Cecilio, para poner en marcha a mediados de los años 90 una línea de investigación sobre las aplicaciones clínicas de la radiobiología, en la que han tenido un papel destacado las herramientas de simulación Monte Carlo. Dicha línea de investigación continúa en la actualidad. El grupo estudió la influencia que tienen las variaciones de radiosensibilidad y cinética de proliferación a lo largo del tratamiento de radioterapia fraccionada para cáncer de mama, así como el efecto del tiempo total de tratamiento, sobre la probabilidad de control tumoral. Estos estudios permitieron concluir que, al igual que para otros tipos de tumores como los de cabeza y cuello, el aumento del tiempo total de tratamiento hace necesario corregir la dosis total para mantener los niveles de control previstos (Guirado y Pacheco, 2000). También estudió el efecto sobre la probabilidad de control tumoral del intervalo de tiempo entre la cirugía y la radioterapia postoperatoria, utilizando técnicas de Monte Carlo. Los tiempos medios de duplicación encontrados para los clonógenos residuales después de la cirugía fueron inferiores a 40 días. La tasa de disminución del control local fue de alrededor del 0,09% por día de retraso entre la cirugía y la radioterapia y el factor de tiempo correspondiente fue de alrededor de 0,11 Gy por día (Al-Dweri y col, 2004).

El **Grupo de Radiobiología del Servicio de Protección Radiológica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia**, dirigido por la Dra. Alegría Montoro, pertenece al grupo de investigación en imagen médica GIBI230 (IISLAFE). Desde el año 2000 trabajan en líneas de investigación sobre sustancias radioprotectoras y radiosensibilidad. En 2006 se publicó la tesis doctoral *Efecto radioprotector del propolis de las abejas en cultivos celulares*. A partir del año 2008, se realizaron estudios de sustancias radioprotectoras, en colaboración con el Dr. Soriano de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia, demostrando la capacidad radioprotectora de compuestos como la curcumina y el resveratrol. En 2017, en colaboración con el Dr. Estrela de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia, el grupo estudió radioprotectores orales centrándose en estudios pre-clínicos en animales de experimentación, con el resultado del registro de una patente europea ya licenciada (PCT/EP2022/051038). En 2022 realizaron estudios para determinar las posibles aplicaciones en pacientes sometidos a radioterapia de un radioprotector y radiomitigador tópico. Hasta la fecha, la crema ha sido testada para comprobar su toxicidad, dentro de las fases del proyecto, con resultados satisfactorios. El grupo también realizó estudios para identificar bioindicadores de radiosensibilidad, dirigidos por la Dra. Natividad Sebastià, en pacientes con cáncer de mama. En el estudio se evaluó la radiosensibilidad celular mediante el análisis de apoptosis tardía en linfocitos CD8+ y el ensayo de micronúcleos en diferentes fases del ciclo celular (fase 0 y G2) (Vandevoorde y col. 2016). Los resultados sugirieron que la radiosensibilidad intrínseca de las pacientes estaba relacionada con el desarrollo de reacciones tisulares normales tardías después de la radioterapia. Este grupo pertenece al centro de atención a irradiados y contaminados del SPR del Hospital y como parte de la actividad han realizado revisiones de biomarcadores de exposición a las radiaciones ionizantes y contramedidas

médicas que se podrían utilizar en caso de emergencias radiológicas y/o nucleares (Obrador y col. 2020, 2022).

El Grupo de Investigación en Radiobiología de la Universitat Rovira i Virgili (URV) de Tarragona, dirigido por la Dra. Victòria Linares-Vidal, forma parte del grupo multidisciplinar de investigación TecnaTox. Se formalizó como Grupo de Radiobiología en 2003, a pesar de que llevaba años investigando en esta área. El objetivo principal fue investigar e incorporar a la docencia la radiobiología y la protección radiológica en el área de la Salud. Los integrantes del grupo pertenecen a diferentes áreas de conocimiento, lo que permite tener una aportación transversal en la investigación realizada. Su actividad como grupo se inició con el estudio *in vivo* de los efectos tóxicos de radionucleidos en las funciones fisiológicas sistémicas, centrándose en los efectos cardiovasculares, reproductivos y cognitivos. Han realizado investigaciones sobre los riesgos de la exposición a uranio durante la gestación y la influencia que en dichos riesgos tiene el estrés. Así, estudiaron las modificaciones en la capacidad antioxidante endógena y el daño oxidativo en varias áreas del cerebro de ratas tratadas con Uranio, observando que éste se acumulaba significativamente en el hipocampo, el cerebelo y la corteza después de 3 meses de exposición. La exposición a U promovió el estrés oxidativo en estos tejidos cerebrales. Los resultados sugerían que la exposición oral crónica a acetato de uranio puede causar perturbaciones progresivas en los niveles cerebrales fisiológicos de marcadores de estrés oxidativo (Linares y col., 2007).

El grupo también investigó los efectos cognitivos y cerebrovasculares inducidos por dosis bajas de radiación ionizante, así como sobre la predicción del riesgo de radiación orientada a sistemas. En 2018 participó, junto con la UAM y la UAB, en el proyecto *Búsqueda de marcadores genéticos de sensibilidad a las dosis bajas de radiación en células linfoides humanas*. Se realizaron estudios sobre los efectos del tratamiento con radioterapia en pacientes con cáncer de mama evaluando *in vitro* e *in vivo* la expresión de diferentes miARN (-146a, -155,



Extensión cromosómica en la que se puede apreciar un cromosoma dicéntrico y un fragmento acéntrico (flechas en azules), y representación de una estimación de dosis al proyectar una frecuencia de dicéntricos a una curva patrón (en magenta dosis media y límites inferior y superior de la estimación).

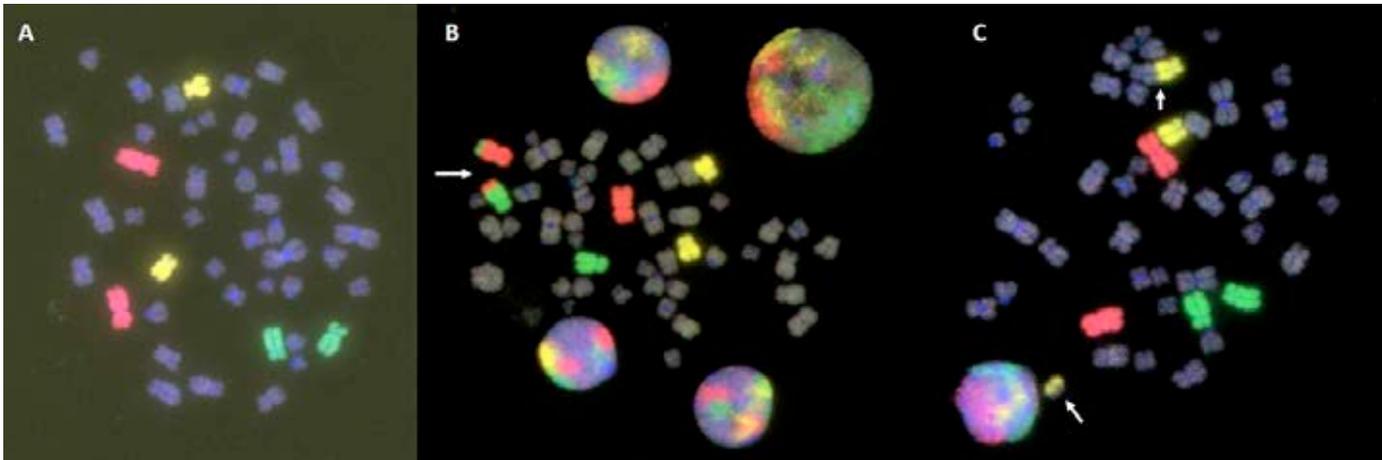
-221 i -222) y su asociación con factores de riesgo cardiovasculares, la respuesta inflamatoria y la disfunción endotelial. Los resultados mostraron que la modulación de la expresión de los miRNA analizados junto con otros factores de riesgo podría estar asociada al desarrollo de futuras patologías cardiovasculares, si bien son necesarios más estudios para confirmar su potencial como posibles biomarcadores en la progresión de la enfermedad (Esplugas y col., 2019). Así mismo, el grupo ha investigado los efectos a largo plazo de la radiación ionizante en el hipocampo, analizando la vinculación de los efectos de la activación de la vía Sonic Hedgehog con la respuesta a la radiación (Antonelli y col., 2021).

La dosimetría biológica

La dosimetría biológica se basa en estimar la dosis absorbida tras una sobreexposición a radiaciones ionizantes mediante el análisis de un parámetro biológico. Si bien la evaluación de alteraciones cromosómicas presentes en linfocitos de sangre periférica como dosímetro biológico se propuso a inicios de los 60 (Bender y Gooch, 1966), no fue hasta 1986 que se publicó el primer manual técnico del OIEA estableciendo unos criterios básicos de consenso de cómo se debía de realizar un estudio de dosimetría biológica (IAEA, 1986). A finales de los años 80, a partir de la propuesta de la Dra. Aurora Bilbao y el Dr. Pere Carbonell del CSN, se realizó una revisión de los centros españoles que disponían de laboratorios de citogenética y que estuvieran interesados en prestar apoyo para la organización de evaluaciones dosimétricas por técnicas biológicas. Esta revisión condujo a la celebración en 1990 de la primera reunión internacional sobre dosimetría biológica en España. La reunión fue presidida por el Dr. Rafael Herranz, y en ella participaron científicos nacionales que realizaban estudios en radiobiología, como el Dr. Goyanes, que posteriormente pasaría el testigo a su discípulo el Dr. José Luis Fernández, y el Dr. José M. Sagredo, y los principales investigadores en dosimetría biológica a nivel internacional, el Dr. Julian Preston de Estados Unidos, los Dres. David Lloyd y A. Edwards del Reino Unido y el Dr. M. Bauchinger de Alemania. Fruto de esta reunión y gracias al impulso dado por el CSN se pusieron a punto diversos servicios de dosimetría biológica en: la Universidad de Alcalá de Henares, el Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) de Madrid, el Centro Oncológico Quiroga Piñeiro de la Coruña, la Universidad del País Vasco y la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB). En 1998 el CSN realizó un monográfico sobre los laboratorios existentes de dosimetría biológica (González Calvo y Diez Sacristán, 1998), los cuales utilizaban mayoritariamente el estudio de cromosomas dicéntricos y realizaron curvas para distintos tipos de radiación. Con el paso de los años algunos de estos laboratorios dejarían de realizar este tipo de estudios, pero surgirían nuevos centros como la Universidad de Murcia, el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia (HUP-LaFe) y la Universidad de Sevilla (US).

Actualmente la dosimetría biológica está ampliamente incorporada en la protección radiológica española y está plenamente integrada en redes internacionales de dosimetría biológica como son la Red Europea RENEB (*Running the European Network of Biological and retrospective Physical dosimetry*), en la que participan el HGUGM, UAB, HUPLaFe y US, y la red coordinada por la OMSBioDoseNet.

En los desarrollos realizados en España en dosimetría biológica, merece una mención especial el CSN, que desde los años 80 ha apoyado y promovido las actividades en esta área, financiando a muchos grupos españoles para que realizaran dichas actividades.



Extensiones cromosómicas a las que se les ha aplicado una técnica de hibridación in situ fluorescente para pintar de manera específica los cromosomas 2 (en rojo), 4 (en verde) y 12 (en amarillo). El resto de cromosomas se observan mediante la tinción con DAPI. A, metafase sin alteraciones cromosómicas en con los cromosomas marcados; B, translocación recíproca (marcada con una flecha) entre los cromosomas 2 y 4; C, dicéntrico que afecta a un cromosoma 12 y un cromosoma teñido con DAPI, las flechas indican el cromosoma dicéntrico y el fragmento acéntrico.

Historiografía de la dosimetría biológica en España

Uno de los primeros laboratorios que introdujo la dosimetría biológica en España fue el de la **Universidad de Alcalá de Henares**, dirigido por Jacinto Navlet. A principios de los años 90 el grupo desarrolló curvas de calibración para rayos gamma mediante las técnicas de dicéntricos y micronúcleos. A mediados de los 2000 el grupo dejó de realizar trabajos de dosimetría biológica.

El **Grupo de la Universidad del País Vasco**, dirigido por la Dra. Aurora Bilbao, fue pionero en realizar curvas de calibración dosis-efecto mediante la técnica de micronúcleos y el primero en realizar una tesis doctoral sobre dosimetría biológica en nuestro país. En 1990 publicó la tesis *La inducción de micronúcleos en los linfocitos humanos: dosímetro biológico de la acción de las partículas alfa procedentes del plutonio*. El grupo dejó esta actividad a finales de los 90.

El **laboratorio del Hospital General Universitario Gregorio Marañón** permanece operativo desde el año 1989. Durante los primeros años estuvo dirigido por las Dras. María Orera y Marina Gómez-Espí que a principios de los 90 pasaron el testigo a las Dras. Mercedes Moreno y María Jesús Prieto. Destacar la inestimable labor realizada por el Dr. Rafael Herranz en todas las actividades de dosimetría biológica realizadas en el laboratorio. Se han realizado curvas de calibración para rayos x, gamma y neutrones, mediante la técnica de dicéntricos y pintado cromosómico mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH), lo que ha permitido estimar dosis en exposiciones agudas y retrospectivas a diferentes tipos de radiación ionizante. Durante estos años el grupo se ha especializado en la aplicación de técnicas de citogenética y genética molecular en oncología, radioterapia y radioprotección, así como en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento multidisciplinar de personas

expuestas a radiaciones ionizantes tanto por causas diagnósticas o terapéuticas, como accidentales. Desde 2013, dispone de acreditación otorgada por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) para realizar ensayos de dosimetría biológica (UNE-EN ISO/IEC 17025 con alcance al estándar internacional ISO 19238:2014) y forma parte del grupo de expertos para la elaboración de normas ISO en materia de dosimetría biológica: TC85/SC2: *Nuclear Energy, Nuclear Technologies and Radiological Protection* (WG18 y 25).

El Laboratorio del Centro Oncológico Quiroga Piñeiro de Galicia, dirigido por el Dr. José Luis Fernández, continúa con su actividad comenzada en los años 90, cuando se realizaron curvas de calibración para ser aplicadas en estudios de dosimetría biológica. Con el apoyo del *National Radiological Protection Board* del Reino Unido, establecieron curvas de rayos X y gamma y de radiación alfa de Pu-239. Para esta última se empleó, de modo pionero, la técnica de FISH. Estas curvas sirvieron de referencia para valoración de individuos expuestos accidentalmente a radiaciones. El laboratorio permanece operativo en la actualidad.

Otro de los grupos que ha permanecido operativo desde los años 90 es el del Dr. Joan Francesc Barquinero de la **Universidad Autónoma de Barcelona**, habiendo publicado curvas de calibración para diferentes tipos de radiación y utilizado diversas técnicas, desde citogenéticas a moleculares. El grupo también ha evaluado la capacidad de realizar dosimetría biológica en distintos escenarios, irradiaciones parciales, irradiaciones a dosis altas, así como irradiaciones ocurridas en el pasado. Han propuesto métodos matemáticos que permitan una mejor estimación de la dosis. Además de realizar estudios de dosimetría biológica en España, el grupo ha participado en estudios realizados tras accidentes tan relevantes como el de la Central Nuclear de Chernóbil, o incidentes ocurridos en otros países. Actualmente es un grupo con amplio reconocimiento internacional.

El Laboratorio de Biodosimetría del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de Valencia, dirigido por

la Dra. Alegría Montoro, comenzó su andadura en el año 2000. La técnica más utilizada en el laboratorio es el ensayo de dicéntricos, aunque el grupo, bajo la coordinación de la Dra. Natividad Sebastià y en colaboración con grupos europeos, lideró las líneas de investigación sobre otras técnicas que se aplican en dosimetría biológica. El grupo realizó estudios de dosimetría biológica en pacientes sometidos a tratamientos de medicina nuclear, en los que se encontró una buena correlación entre la dosimetría física y la biológica. Asimismo, en colaboración con el servicio médico especializado del SPR del Hospital y el grupo de la UAB, realizó un



Laboratorio del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid.

estudio a niños y adolescentes que viven en áreas próximas a la zona de Chernóbil, que mostró que la frecuencia de dicéntricos en estos niños y adolescentes no difería de la frecuencia basal. El grupo también realizó un estudio de dicéntricos en radiólogos intervencionistas, que mostró la importancia de la dosimetría biológica en el ámbito de los trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes. En el año 2020, gracias a un proyecto FEDER y el apoyo de la Conselleria Valenciana, se consiguió automatizar todo el laboratorio de biodosimetría, contando actualmente con equipamiento de altas prestaciones.

El Grupo de la Universidad de Sevilla, dirigido por el Dr. Santiago Mateos y liderado en dosimetría biológica por la Dra. Inmaculada Domínguez, tiene amplia experiencia en el estudio del daño en el ADN producido por radiaciones ionizantes y en los mecanismos de reparación de este daño, para lo cual han utilizado técnicas citogenéticas y moleculares que incluyen dicéntricos, micronúcleos y FISH.

El grupo de Radiobiología de la Universidad de Murcia, dirigido por el Dr. Alcaraz, realizó a principios de los años 2000 estudios de dosimetría biológica en pacientes con cáncer de tiroides tratados con I-131. Destacar que fue el primer grupo a nivel internacional que introdujo la estadística bayesiana en el campo de la dosimetría biológica.

AGRADECIMIENTOS

Un sincero agradecimiento por su valiosa contribución a esta sección a *Miguel Alcaraz* de la Universidad de Murcia, *Inmaculada Domínguez* y *Santiago Mateos Cordero* de la Universidad de Sevilla, *José Luis Fernández* del Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, *Anna Genescà* de la Universitat Autònoma de Barcelona, *Damián Guirado* del Hospital Universitario Clínico San Cecilio de Granada, *Victoria Linares* de la Universitat Rovira i Virgili, *José-Mariano Ruiz de Almodóvar* de la Universidad de Granada, *Javier Santos* de la Universidad Autónoma de Madrid y *Mercedes Moreno Domene* del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

REFERENCIAS

- Alcaraz, M., Olivares, A., Achel, D.G., et al. (2022). Genoprotective Effect of some Flavonoids against Genotoxic Damage Induced by X-rays In Vivo: Relationship between Structure and Activity. *Antioxidants*, 11, 94. doi:10.3390/antiox11010094.
- Al-Dweri, F.M., Guirado, D., Lallena, A.M., y Pedraza, V. (2002). Effect on tumour control of time interval between surgery and postoperative radiotherapy: an empirical approach using Monte Carlo simulation. *Phys Med Biol*, 49(13),2827-39. doi: 10.1088/0031-9155/49/13/005.
- Antonelli, F., Casciati, A., Belles, M., et al. (2021). Long-Term Effects of Ionizing Radiation on the Hippocampus: Linking Effects of the Sonic Hedgehog Pathway Activation with Radiation Response. *Int J Mol Sci*, 22(22), 12605. doi: 10.3390/ijms222212605.
- Barquinero, J.F., Barrios, L., Caballín, M.R., et al. (1993). Cytogenetic analysis of lymphocytes from hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mut Res*, 286(2), 275-9. doi: 10.1016/0027-5107(93)90192-I.

- Barrios, L., Miró, R., Caballín, M.R., et al. (1989). Cytogenetic effects of radiotherapy. Breakpoint distribution in induced chromosome aberrations. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 41(1), 61-70. doi: [10.1016/0165-4608\(89\)90108-8](https://doi.org/10.1016/0165-4608(89)90108-8).
- Bender, M.A., and Gooch, P.C. (1962). Types and rates of x-ray-induced chromosome aberrations in human blood irradiated in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 48(4), 522-32. doi: [10.1073/pnas.48.4.522](https://doi.org/10.1073/pnas.48.4.522).
- Casado, J.A., Bauluz, C., y Real A. (1997). Estudio in vivo de los mecanismos de oncogénesis hematológica tras exposición a radiación ionizante utilizando un modelo de ratones deficientes en p53. Low doses of ionizing radiation: biological effects and regulatory Control. IAEA-TECDOC 976. Pp 552-555. OIEA Sevilla.
- Cortés, F., Domínguez, I., Piñero, J., et al. (1990). Adaptive response in human lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide before irradiation with x-rays, *Mutagenesis*, 5, 555-557.
- De Araujo Farias V., O'Valle, F., Serrano-Saenz, S., et al. (2018). Exosomes derived from mesenchymal stem cells enhance radiotherapy-induced cell death in tumor and metastatic tumor foci. *Molecular Cancer*, 17, 122. doi: [10.1186/s12943-018-0867-0](https://doi.org/10.1186/s12943-018-0867-0)
- Domínguez, I., (1996). Analysis of radiation-induced chromosome aberrations in Chinese hamster cells by FISH using chromosome-specific DNA libraries. *Int J Rad Biol*, 70(2), 199-208. doi: [10.1080/095530096145193](https://doi.org/10.1080/095530096145193)
- Esplugas, R., Arenas, M., Serra, I., et al. (2019). Effect of radiotherapy on the expression of cardiovascular disease-related miRNA-146a, -155, -221 and -222 in blood of women with breast cancer. *PLoS ONE*, 14(5), 1-17. doi: [10.1371/journal.pone.0217443](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217443).
- González Calvo, A. y Diez Sacristán A. (1998). Dosimetría biológica: análisis de las aberraciones cromosómicas para la estimación de dosis. Casos investigados en España. Colección Otros documentos 9. Publicado y editado por CSN.
- Goyanes, V.J. (1971). Chromosomal abnormalities in lymphocytes of children and baby rabbits born from mother treated by x-irradiation before pregnancy. A trans-placental plasmatic chromosome damaged factor? *Blut*, 22, 93-96.
- Grande Azañedo, M.T. (1988). Estimulación proliferativa de células madre hematopoyéticas de ratón por actividades circulantes producidas durante la recuperación de un daño hematopoyético radio inducido. Tesis doctoral. UCM.
- Guirado, D., y Pacheco, M.V. (2000). Estudio computarizado de la influencia de la proliferación y de la variación de la radiosensibilidad en un programa de radioterapia fraccionada. Efecto del tiempo total de tratamiento sobre el control tumoral. *Rev Oncología*, 2, 42-50 doi: [10.1007/BF02978301](https://doi.org/10.1007/BF02978301).
- Hernández, L., Terradas, M., Martín, M., et al. (2013a). Highly sensitive automated method for DNA damage assessment: gamma-H2AX foci counting and cell cycle sorting. *Int J Mol Sci*, 14(8), 15810-26. doi: [10.3390/ijms140815810](https://doi.org/10.3390/ijms140815810).
- Hernández, L., Terradas, M., Martín, M., et al. (2013b). Increased mammogram-induced DNA damage in mammary epithelial cells aged in vitro. *PLoS ONE*, 8(5), e63052 doi: [10.1371/journal.pone.0063052](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063052).
- IAEA. (1986). Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment. *Technical Reports Series N° 260*. International Atomic Energy Agency, Vienna.

- Linares, V., Sánchez, D. J., Bellés, M., et al. (2007). Pro-oxidant effects in the brain of rats concurrently exposed to uranium and stress. *Toxicology*, 236(1-2), 82-91. doi: [10.1016/j.tox.2007.04.001](https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.04.001).
- Lopez E., Guerrero, R., Núñez, M.I., et al. (2005). Early and late skin reactions to radiotherapy for breast cancer and their correlation with radiation-induced DNA damage in lymphocytes. *Breast Can Res*, 7(5), R690-698. doi: [10.1186/bcr1277](https://doi.org/10.1186/bcr1277).
- López-Nieva, P., González-Vasconcellos, I., González-Sánchez, L., et al. (2022) Differential molecular response in mice and human thymocytes exposed to a combined-dose radiation regime. *Scientific Reports*, 12, 3144. doi: [10.1038/s41598-022-07166-8](https://doi.org/10.1038/s41598-022-07166-8).
- Mateos, S., Hajji, N., Pastor, N., et al. (2006). Modulation of radiation response by inhibiting topoisomerase II catalytic activity. *Mut Res*, 599(1-2), 105-115.
- Mestres, M., Caballín, M.R., Barrios, L., Ribas, M., Barquinero, J.F. (2009). RBE of X rays of different energies: a cytogenetic evaluation by FISH. *Rad Res*, 170(1), 93-100. doi: [10.1667/RR1280.1](https://doi.org/10.1667/RR1280.1).
- Moreno, M., Pola, P., Ayala, R., et al. (2018). Predicción de la sensibilidad individual: Aplicación clínica para pacientes de radioterapia. *XI Congreso Regional Latinoamericano IRPA de Protección Radiológica y Seguridad Nuclear* (16-20 de abril de 2018, La Habana Cuba).
- Mosquera, A., Guillén, R., Otero, F., et al. (2021). Design of a digital-PCR assay to quantify fragmented human mitochondrial DNA. *Env Mol Mut* 62: 364-373.
- Obrador, E., Salvador, R., Villaescusa, J.I., et al. (2020). Radioprotection and Radiomitigation: From the Bench to Clinical Practice. *Biomedicines*, 8(11), 461. doi: [10.3390/biomedicines8110461](https://doi.org/10.3390/biomedicines8110461).
- Obrador, E., Salvador-Palmer, R., Villaescusa, J.I., et al. (2022). Nuclear and Radiological Emergencies: Biological Effects, Countermeasures and Biodosimetry. *Antioxidants (Basel)*, 11(6):1098. doi: [10.3390/antiox11061098](https://doi.org/10.3390/antiox11061098).
- Olivares, A., Alcaraz-Saura, M., Achel, D.G., et al. (2020). Effect of rosmarinic acid and ionizing radiation on glutathione in melanoma B16F10 cells: A translational opportunity. *Antioxidants*, 9, 1291. doi: [10.3390/antiox9121291](https://doi.org/10.3390/antiox9121291).
- Olivares, A., Alcaraz-Saura, M., Achel, D.G., et al. (2021). Radiation-induced bystander effect: loss of radioprotective capacity of rosmarinic acid in vivo and in vitro. *Antioxidants* 2021, 10(2), 231 doi: [10.3390/antiox10020231](https://doi.org/10.3390/antiox10020231).
- Orcajo, J. Prieto, M.J., Moreno, M., et al. (2015). Efectos genotóxicos del tratamiento ablativo con I131. 35º *Congreso Nacional de la SEMNIM* (Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Médica (Burgos 17-19 junio 2015).
- Real Gallego, A. (1992). Estimulación hematopoyética inducida por un modificador de la respuesta biológica de naturaleza polisacárido-proteína. Tesis doctoral. UCM.
- Repullés, J., Anglada, T., Soler, D., et al. (2019). Radiation-Induced Malignant Transformation of Preneoplastic and Normal Breast Primary Epithelial Cells. *Mol Can Res*, 17(4), 937-948. doi: [10.1158/1541-7786.MCR-18-0938](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-18-0938).

- Ruiz de Almodovar, J.M., Guirado, D., Nunez, M. I., et al.(2002). Individualization of radiotherapy in breast cancer patients: possible usefulness of a DNA damage assay to measure normal cell radiosensitivity. *Radiother Oncol*, 62(3),327-333. doi: [10.1016/s0167-8140\(01\)00490-x](https://doi.org/10.1016/s0167-8140(01)00490-x).
- Santos, J., Pérez de Castro, I., Herranz, M., et al. (1996). Allelic losses on chromosome 4 suggest the existence of a candidate tumor suppressor gene region of about 0.6 cM in gamma-radiation-induced mouse primary thymic lymphomas. *Oncogene*, 12(3), 669-676.
- Santos, J., González-Sánchez, L., Villa-Morales, M., et al. (2010). The stromal gene encoding the CD274 antigen as a genetic modifier controlling survival of mice with γ -radiation-induced T-cell lymphoblastic lymphomas. *Oncogene*, 29(38), 5265-5273. doi: [10.1038/onc.2010.280](https://doi.org/10.1038/onc.2010.280).
- Vandevoorde, C., Depuydt, J., Veldeman, L., et al. (2016). In vitro cellular radiosensitivity in relationship to late normal tissue reactions in breast cancer patients: a multi-endpoint case-control study. *Int J Radiat Biol.*, 92(12):823-836. doi: [10.1080/09553002.2016.1230238](https://doi.org/10.1080/09553002.2016.1230238).
- Vázquez-Gundín, F., Rivero, M.T., Gosálvez, J., et al. (2002). Radiation-induced DNA breaks in different human satellite DNA sequence areas, analyzed by DNA breakage detection-fluorescence in situ hybridisation. *Rad Res*, 157, 711-720.



Almudena Real es Doctora en Ciencias Biológicas. Desde 1986 trabaja en el CIEMAT en temas de investigación relacionados con radiobiología, radioecología y protección radiológica de las personas y el medioambiente. Ha participado en más de 30 proyectos de I+D+i. Ha realizado estancias en centros de investigación de Inglaterra, EE.UU. y Alemania. Miembro de la ICRP desde 2005 a 2017, siendo de 2015 a 2017 vicepresidenta de su Comité 5 sobre protección radiológica del medioambiente. Desde 2013 es la secretaria de la Alianza Europea de Radioecología. Desde 2015 es la jefa de la Unidad de Protección Radiológica del Público y el Medio Ambiente del CIEMAT.



Joan-Francesc Barquiner Estruch, Catedrático de Genética Humana adscrito al Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Autónoma de Barcelona. Su área de investigación ha sido el estudio de los efectos en la salud humana de la exposición a las radiaciones ionizantes, con especial interés en el desarrollo de la dosimetría biológica. Durante su carrera profesional ha trabajado en distintos centros extranjeros y ha participado como experto en múltiples misiones para el Organismo Internacional de la Energía Atómica. Es miembro de la Sociedad Española de Protección Radiológica.



Alegría Montoro. Licenciada en CC Biológicas por la UV y Doctora en CC. Biológicas por la UPV. Master en Prevención de Riesgos Laborales y Mater en Epidemiología y Salud Pública. Supervisora de Instalaciones Radiactivas del CSN. Responsable del Laboratorio de Dosimetría Biológica del SPR del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia. Es autora y co-autora de más de 40 publicaciones científicas, artículos, revisiones, capítulos de libros, co-editora. Pertenece y colabora con la SEPR desde el año 2001 y en 2015-2018 fue Secretaria General de PEPRI. Pertenece a Redes Internacionales RENEB, REMPAM, BioDoseNet y EURAMED. Ha participado en varias misiones para la OIEA.



María Jesús Prieto Rodríguez, Responsable de la Dirección de calidad del Laboratorio de Dosimetría Biológica del Centro Nacional para atención a irradiados y contaminados Niveles I y II del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Es miembro del comité técnico AEN/CTN 73, participando en los WG 18 (Biological Dosimetry) y WG 25 (Radiation monitoring of the population and responders in nuclear/radiological emergencies). Forma parte de redes internacionales de dosimetría biológica y de atención médica en caso de emergencias radiológicas como RENEB, REMPAN-BioDoseNet (OMS), y RANET (OIEA) y de plataformas europeas como EURADOS.

