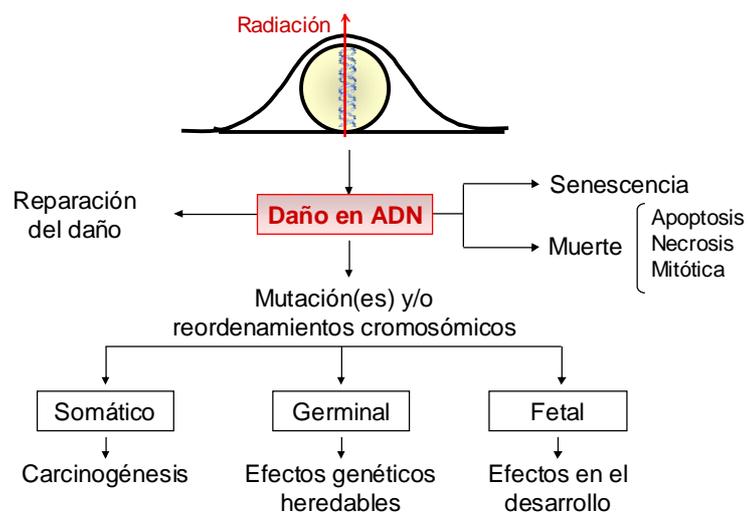


## EFFECTOS NO CONVENCIONALES DE LAS RADIACIONES IONIZANTES. IMPLICACIONES EN LA PROTECCIÓN RADIOLÓGICA

Almudena Real

Unidad de Protección Radiológica del Público y del Medio Ambiente

### Efectos biológicos de la radiación ionizante



## Blanco crítico de los efectos de la radiación ionizante

---

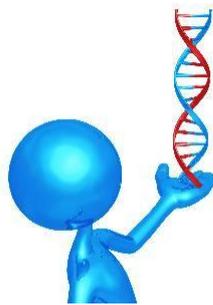
- ▶ Zirkle y Bloom en 1953: la muerte celular era dependiente de la irradiación del núcleo, existiendo poca citotoxicidad cuando sólo el citoplasma era irradiado.

**El núcleo es el blanco de acción de la radiación.**

- ▶ Posteriormente, el interés se centró específicamente en la **molécula de ADN** con el descubrimiento de los mecanismos de reparación celular en 1964.
- ▶ En 1977: relación directa entre la regulación de la reparación del ADN y los efectos citotóxicos de la radiación.
- ▶ Técnicas que permitían la exposición a radiación localizada en el ADN:  $^{125}\text{I}$ -deoxiuridina (muy mutagénico y citotóxico).

## Paradigma de la Radiobiología

---



**El blanco crítico en la célula irradiada es la molécula de ADN**

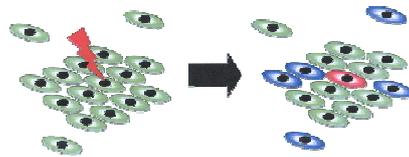
Los **efectos biológicos** se producirán en las células irradiadas y su descendencia como consecuencia del **daño en el ADN no reparado**

## “Jaque” al paradigma

### ► 1992 Nagasawa y Little

Aumento en la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en cerca del 30% de las células de una población en la que menos del 1% de los núcleos habían sido atravesados por una partícula alfa.

Pueden aparecer efectos genéticos en células que no han sufrido una irradiación directa, pero están próximas a las células que si han sido directamente irradiadas.



**Efectos vecindad (“bystander”)**



## Efectos vecindad

### Reseña histórica de los efectos vecindad

<b>1953</b>	Mole	Efectos abscopales
<b>1970</b>	Inmunología y terapia génica	Término “bystander”
<b>1992</b>	Nagasawa y Little	Efectos vecindad y radiación ionizante



## Efectos abscopales

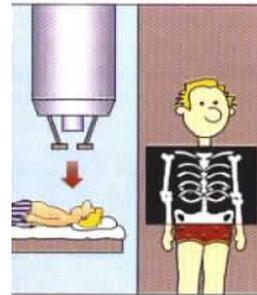
Los radioterapeutas observaron que tejidos que se encontraban fuera del haz de radiación de sus equipos de radioterapia respondían como si estuvieran siendo irradiados, desconociéndose la causa.

**Abscopal** del latín

**Ab:** posición alejada de

**Scopus:** marca o blanco

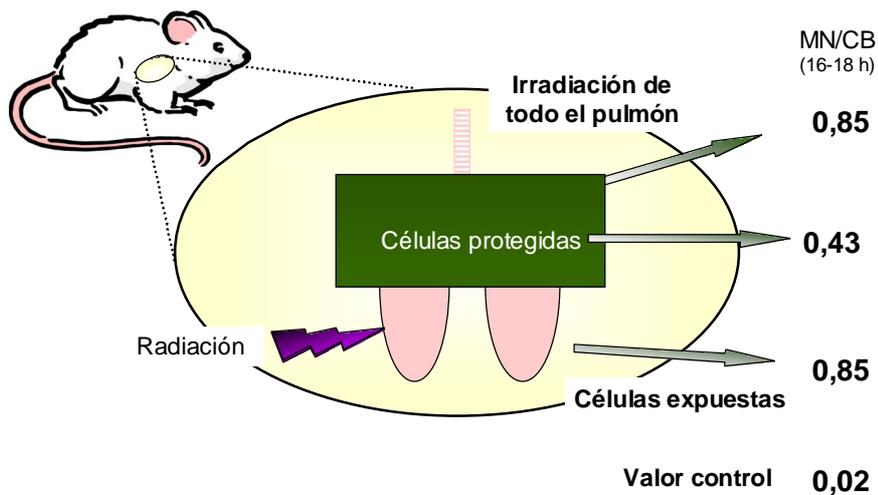
Efectos fuera del blanco



INSTITUTO DE CIENCIAS CARMEN DE LA ROSA

**Ciemat** Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos abscopales



Khan y col. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 40(2): 467-476 (1998)

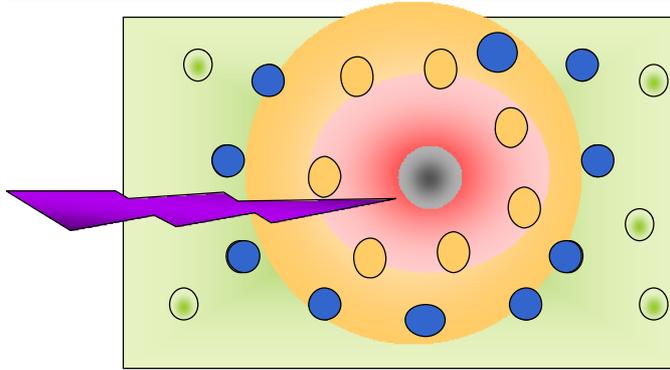


INSTITUTO DE CIENCIAS CARMEN DE LA ROSA

**Ciemat** Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad radioinducidos

Cuando una célula es dañada por radiación, puede enviar señales a células que se encuentran próximas a ella



Las señales enviadas por las células dañadas pueden alterar el funcionamiento normal de sus células vecinas, o puede estimularlas a responder con señales adicionales hacia la célula dañada o hacia otras células cercanas.



INSTITUTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Irradiadores de partículas alfa a flujos bajos

Aumento en la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en cerca del 30% de las células de una población en la que menos del 1% de los núcleos habían sido atravesados por una partícula alfa.

- Muerte celular
- Mutaciones
- Aberraciones cromosómicas
- Transformación celular
- Expresión de genes

La expresión de los efectos vecindad depende de:

- Tipo de célula
- Factores genéticos

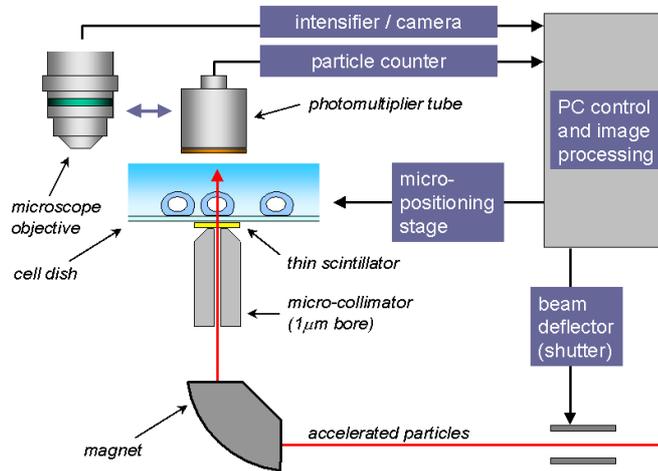


INSTITUTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Irradiadores de microhaces



MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

**Ciemat** Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Irradiadores de microhaces

Centro	País	Radiación	LET (keV/μm)
<b>Columbia University</b>	EE.UU.	Partículas alfa	30-220
<b>Gray Cancer Institute</b>	Reino Unido	Iones He-3 Rayos-X ultra blandos	100
<b>Atomic Energy Research Center</b>	Japón	Elementos de alto n° atómico (Ar, Ne)	380-1.260

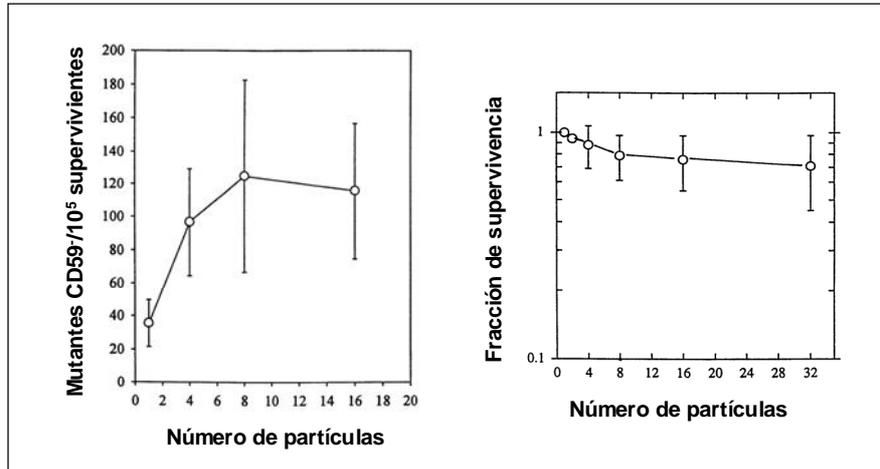


MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

**Ciemat** Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Irradiación del citoplasma (microhaz)



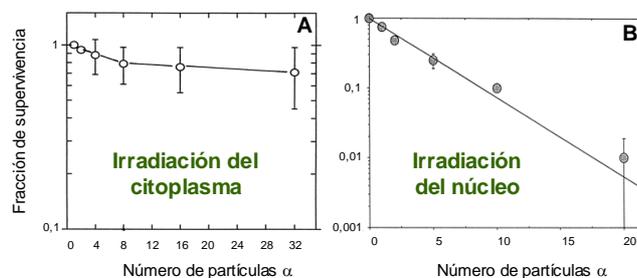
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Irradiación del citoplasma: Conclusiones

- El blanco de los efectos genéticos era mayor que el núcleo.
- La irradiación del citoplasma con partículas alfa puede ser más peligrosa que la irradiación del núcleo, ya que al aumentar el n<sup>o</sup> de partículas que atraviesan el citoplasma aumenta la mutagenicidad pero no la mortalidad celular

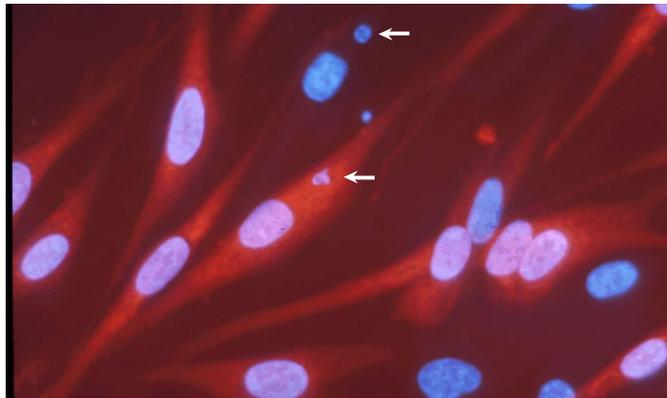


MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Inducción de micronúcleos en células circunstantes



- Sólo los núcleos de células teñidas de **rosa** han sido **atravesados por partículas  $\alpha$** .
- MN no sólo en células irradiadas (rosa) sino también en **no expuestas (azul)**.

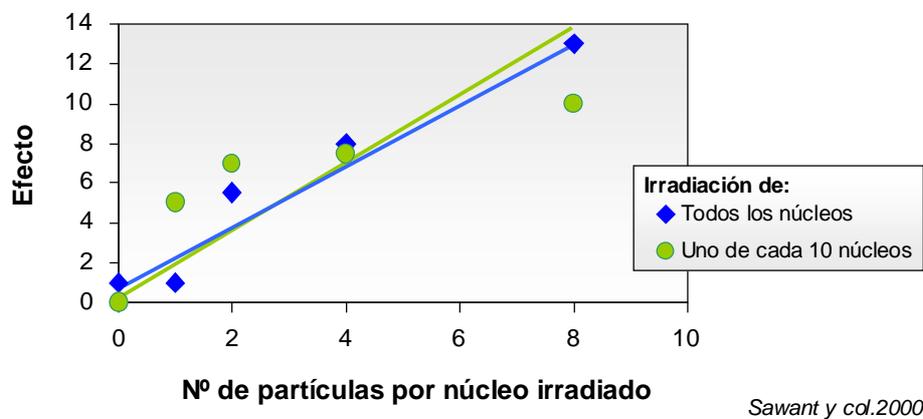


INSTITUTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad *in vitro*

### ► Transformación maligna en células vecinas



INSTITUTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

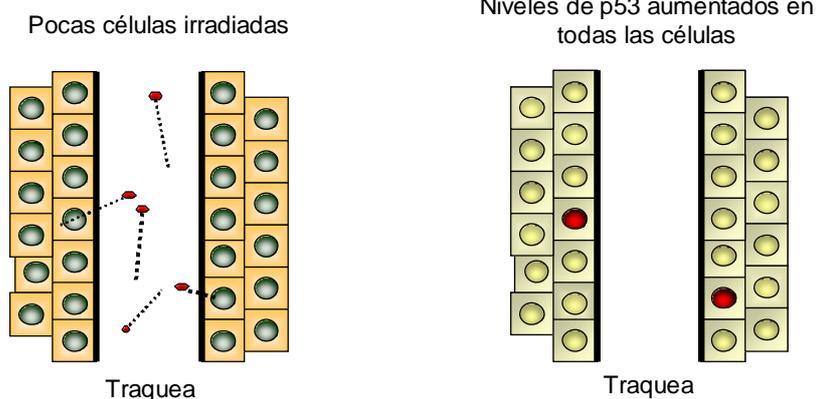
## Efectos vecindad *in vivo*

Efecto	Sistema celular	Radiación
Aberraciones cromosómicas	Hámster chino (ovario e hígado)	Partículas alfa ( $^{239}\text{Pu}$ ) Partículas alfa
	Células de M.O. de ratón	Neutrones
Frecuencia de micronúcleos	Pulmón de rata	Rayos gamma
Movilización de calcio, niveles de fosfatasa alcalina, desarrollo embrionario	Incisivos de rata, tiroides, abdomen	Rayos-X
Activación de macrófagos, "burst" respiratorio, infiltración de neutrófilos	Ratones p53-/-	Rayos gamma
Crecimiento de tumores	Células humanas de adenocarcinoma de colon	Partículas beta (Yodo)
	Ratones C57BL/6	Rayos gamma



## Efectos vecindad *in vivo*

### ► Efecto vecindad en epitelio traqueal de rata inducido por radón

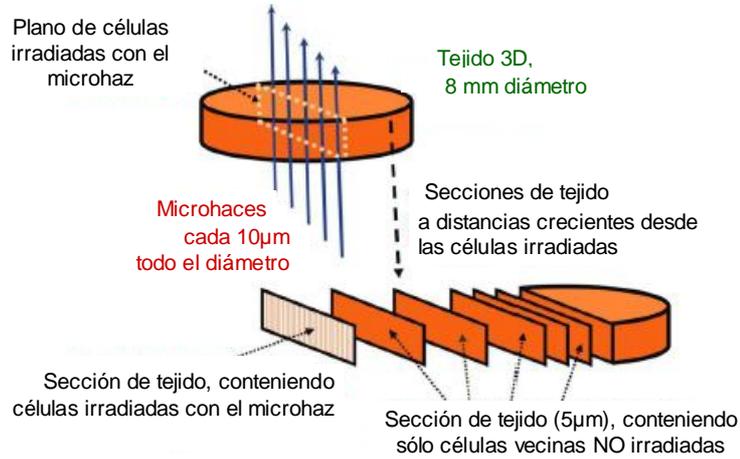


A tasas de dosis bajas el efecto vecindad se limita al tejido u órgano irradiado



# Efectos vecindad *in vivo*

## ► Efectos vecindad en un modelo *in vivo* de piel humana (3D)



Belyakov et al, PNAS 102, 14203-7 (2005)

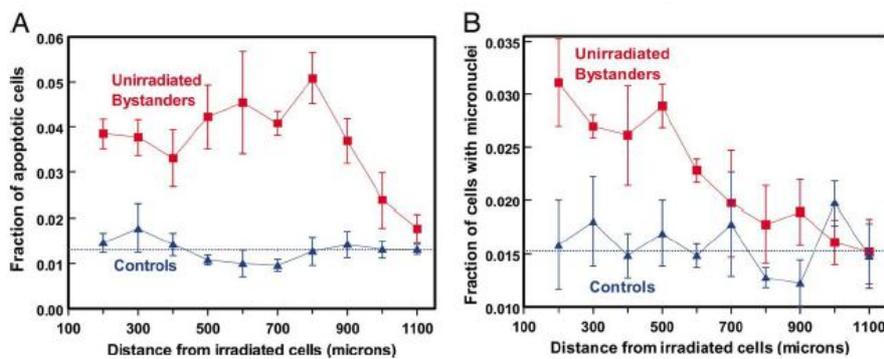


INSTITUTO DE CIENCIAS QUÍMICAS

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

# Efectos vecindad *in vivo*

## ► Efectos vecindad en un modelo *in vivo* de piel humana (3D)



Belyakov et al, PNAS 102, 14203-7 (2005)



INSTITUTO DE CIENCIAS QUÍMICAS

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

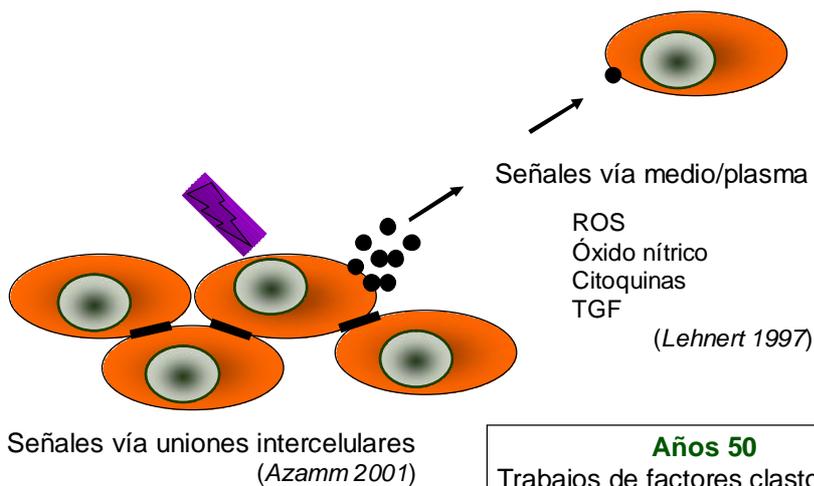
## Efectos vecindad

- Evidencias sólidas en humanos y animales de laboratorio de que **células que no han sufrido una irradiación directa pueden manifestar efectos genéticos**, cuando se encuentran próximas a aquellas células que han sido atravesadas por una trayectoria de radiación.

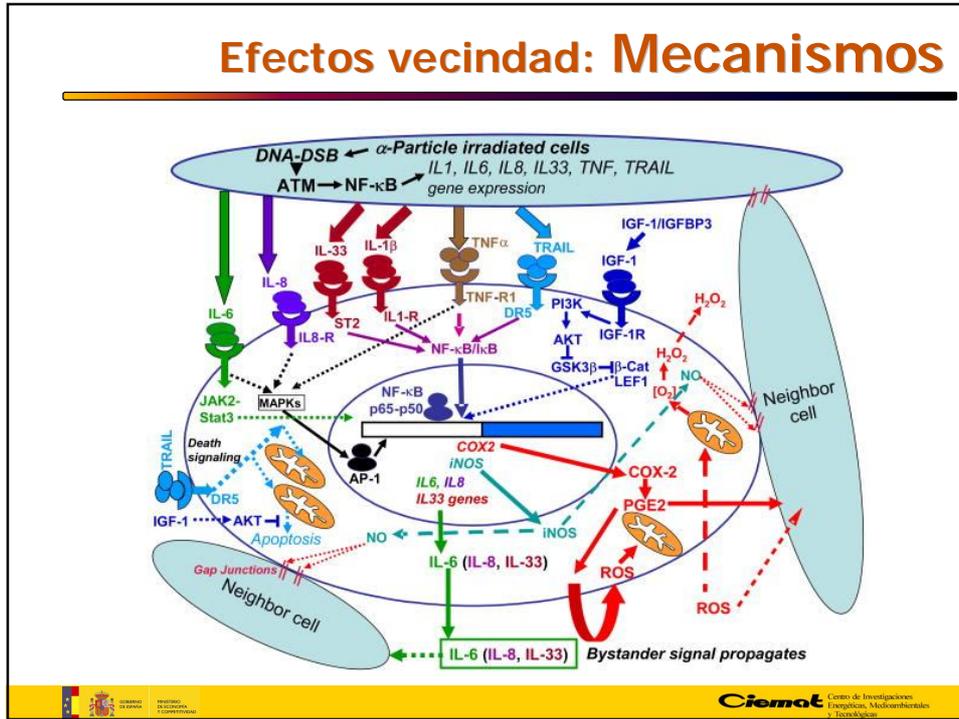
### ¿Cómo se producen los efectos vecindad?



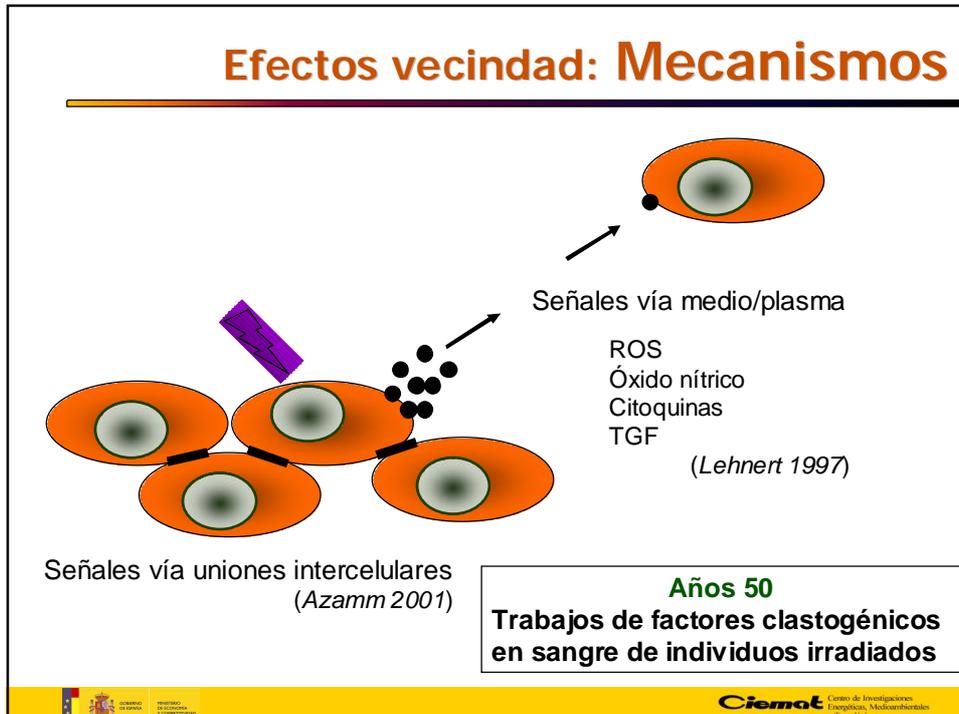
## Efectos vecindad: Mecanismos



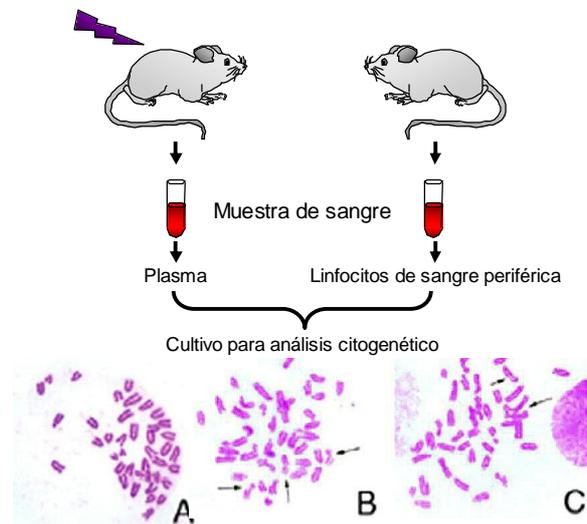
## Efectos vecindad: Mecanismos



## Efectos vecindad: Mecanismos



## Factores clastogénicos



GOBIERNO DE ESPAÑA  
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Factores clastogénicos

### ► Se han detectado factores clastogénicos en plasma de:

- Individuos irradiados accidentalmente (1968)
- Individuos irradiados durante terapia (1968)
- Supervivientes de las bombas atómicas de Japón (1977)
- Trabajadores de Chernobyl (1994)
- Niños expuestos tras el accidente de Chernobyl (1997)
- Sangre humana irradiada *in vitro* (1969)
- Ratas CF-Nelson (fibrosis quística) (1984)
- Pacientes con síndromes de cromosomas frágiles (Síndrome de Bloom, Anemia de Fanconi, Xeroderma pigmentosum)



GOBIERNO DE ESPAÑA  
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Efectos vecindad: Conclusiones

- ▶ La exposición de las células a **radiación puede inducir cambios en células que no han sido atravesadas por una trayectoria de ionización.**
- ▶ **No muestran una relación lineal con la dosis.** Se inducen de forma máxima a dosis muy bajas, "saturándose" a dosis más altas.
- ▶ Son consecuencia de la **comunicación entre las células**, ya sea por contacto o mediante factores liberados.
- ▶ A tasas de dosis bajas se han descrito efectos vecindad *in vivo*, estando estos **limitados al tejido expuesto** a la radiación.
- ▶ Los efectos inducidos por la radiación en células vecinas son **eventos muy frecuentes**, sugiriendo la implicación de todo el tejido.
- ▶ La existencia de estos efectos indica que **el cáncer radioinducido no es sólo un evento celular**, sino una respuesta tisular u orgánica.
- ▶ El descubrimiento de los efectos vecindad ha contribuido a que **cambie el principal paradigma de la radiobiología.**



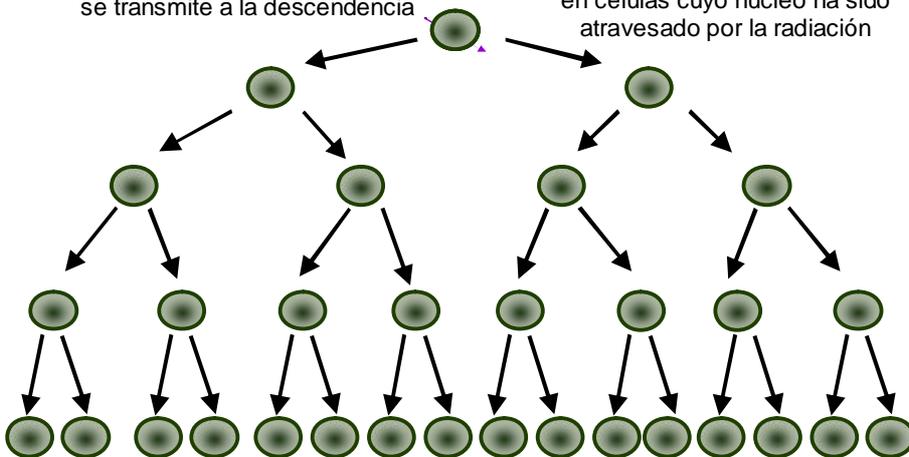
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Paradigma de Radiobiología

El daño fijado en el ADN de la célula irradiada, si no es letal, se transmite a la descendencia

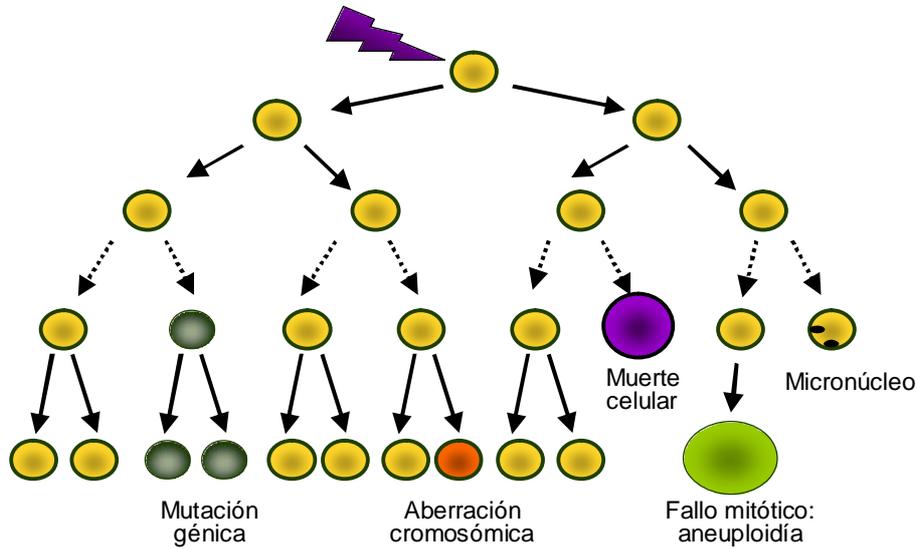
Los efectos se producen en células cuyo núcleo ha sido atravesado por la radiación



MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

Ciemat Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## “Jaque” al paradigma



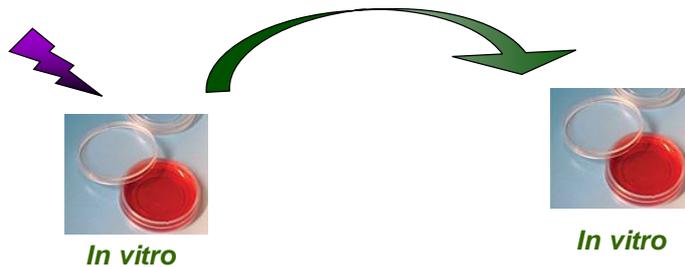
## Inestabilidad genómica

### Hipótesis

La radiación puede inducir un tipo de inestabilidad en el genoma de una fracción relativamente grande de la población irradiada, lo que lleva a un aumento en la frecuencia con la que tienen lugar cambios genéticos en la progenie de la célula inicialmente irradiada. El fenotipo inestable podría persistir muchas rondas de división celular después de la exposición a radiación.

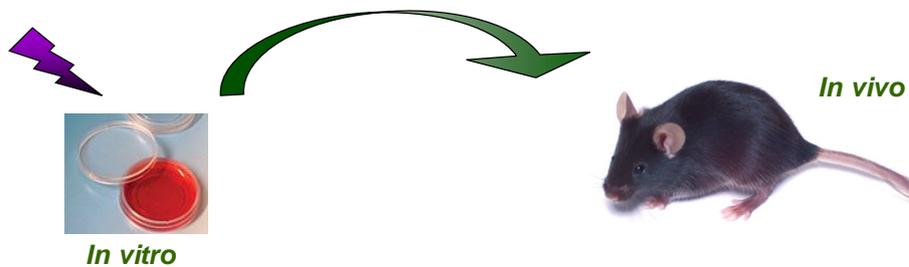
# Inestabilidad genómica

- ▶ **Diversos sistemas experimentales**
- ▶ **Distintos efectos biológicos:**
  - Mutaciones
  - Aberraciones cromosómicas
  - Muerte celular
  - Expresión de genes



# Inestabilidad genómica

- ▶ **Diversos sistemas experimentales**
- ▶ **Distintos efectos biológicos:**
  - Mutaciones
  - Aberraciones cromosómicas
  - Muerte celular
  - Expresión de genes



# Inestabilidad genómica

- ▶ **Diversos sistemas experimentales**
- ▶ **Distintos efectos biológicos:**
  - Mutaciones
  - Aberraciones cromosómicas
  - Muerte celular
  - Expresión de genes



*In vitro*



*In vivo*



GOBIERNO DE ESPAÑA  
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

**Ciemat**

Centro de Investigaciones  
Energéticas, Medioambientales  
y Tecnológicas

# Inestabilidad genómica

- ▶ **Diversos sistemas experimentales**
- ▶ **Distintos efectos biológicos:**
  - Mutaciones
  - Aberraciones cromosómicas
  - Muerte celular
  - Expresión de genes



*In vivo*



*In vivo*



GOBIERNO DE ESPAÑA  
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

**Ciemat**

Centro de Investigaciones  
Energéticas, Medioambientales  
y Tecnológicas

## Inestabilidad genómica *in vivo*

- ▶ **Estudios en animales de laboratorio**
- ▶ **Estudios en humanos:**
  - Inestabilidad genómica y cánceres secundarios en **pacientes tratados con radioterapia** por cáncer
  - Pacientes que recibieron tratamiento con “**Thorotrast**”
  - Tumores sólidos desarrollados tras radioterapia en **pacientes con retinoblastoma**
- ▶ **Relación con las leucemias inducidas por radiación**
  - Supervivientes de Hiroshima y Nagasaki con leucemia: inestabilidad cromosómica persistente.

Concluyen que **la inestabilidad genómica persistente influye fuertemente en el desarrollo de leucemia** en humanos expuestos a radiación.

**No está claro que la inestabilidad esté relacionada con la dosis recibida.**



## Inestabilidad genómica: Conclusiones

- ▶ Los distintos **fenotipos asociados con la inestabilidad genómica están relativamente bien caracterizados.**
- ▶ **No hay una relación dosis-respuesta clara.** A dosis altas “saturación”.
- ▶ Los datos disponibles apuntan a que la inestabilidad genómica es **independiente de la tasa de dosis y de la calidad de la radiación.**
- ▶ Los **eventos moleculares, bioquímicos y celulares que inician y perpetúan** la inestabilidad genómica siguen siendo desconocidos.
- ▶ La **frecuencia con la que se produce la inestabilidad genómica** es muy superior a la frecuencia de mutación a dosis similares, por lo que es poco probable que una mutación en un gen o familia de genes sea la responsable del fenotipo inestable.
- ▶ La inestabilidad genómica podría tener un **papel importante en el proceso carcinogénico radioinducido.**



## Relación entre ambos efectos

### ► Efectos vecindad vs inestabilidad genómica

#### Diferencias:

La **inestabilidad genómica** ocurre en la descendencia lejana de la célula irradiada, mientras los **efectos vecindad** ocurren casi inmediatamente en las células próximas que reciben las señales circunstantes.

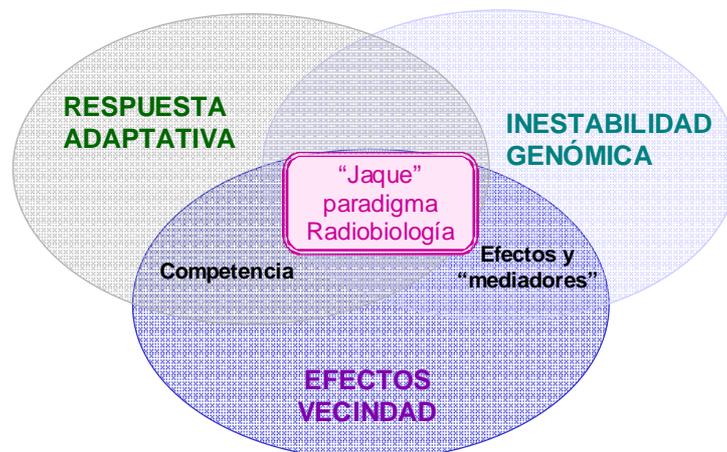
#### Semejanzas:

- Los **mismos efectos** observados: reordenamiento cromosómico, micronúcleos, mutaciones, transformación neoplásica y muerte celular.
- Las **mutaciones** observadas son similares en cuanto a su estructura molecular, siendo principalmente mutaciones puntuales.
- Parece haber una regulación positiva del **estrés oxidativo** (aumento de ROS).

Cada vez hay más evidencias que sugieren que ambos fenómenos están ligados. Es probable, dado que los efectos observados son los mismos, que ambos fenómenos puedan ser manifestaciones de un mismo proceso(s) no-dirigido(s).

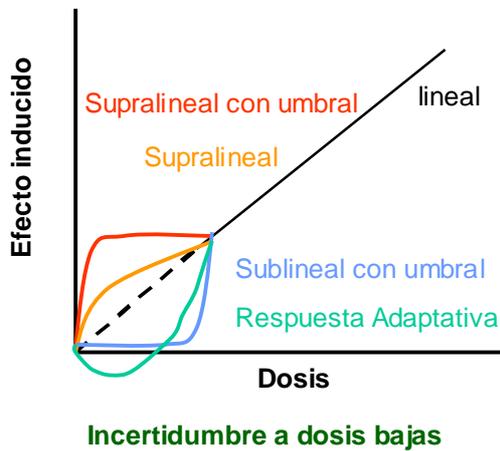


## Efectos no convencionales



# Implicaciones en PR

## ► Riesgo de dosis bajas y efectos vecindad



¿Mayor riesgo?



Cambios mutagénicos



**Efectos no dirigidos**



Muerte celular

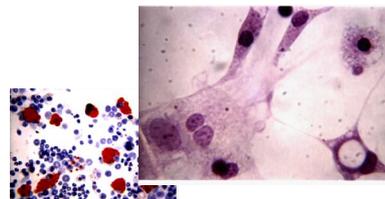


¿Menor riesgo?

# Implicaciones en PR

## ► Reconsiderar los conceptos de dosis y tamaño del blanco

- Los efectos vecindad en esencia “amplifican” la efectividad biológica de una dosis de radiación dada. La **dosis de radiación** a bajas fluencias de partículas alfa o a dosis bajas de radiación gamma o X puede no ser un concepto tan significativo como a dosis altas.
- Muchos de los efectos indirectos descritos indican que el **blanco** para los efectos perjudiciales de la radiación puede ser **mucho mayor que el volumen irradiado**, lo que tendría implicaciones para la salud de las personas.



## Implicaciones en radioterapia

En casos de utilizar tratamientos con múltiples campos, el volumen que recibe la máxima dosis de radiación se diseña cuidadosamente. Los efectos vecindad introducen incertidumbres en esta **dosimetría**, especialmente en los extremos del área de irradiación

Puede que sea necesario redefinir lo que entendemos por “campo” y considerar una “**penumbra biológica**” al igual que una penumbra física.



**Determinar hasta que punto los efectos vecindad contribuyen en los perfiles de respuesta globales de las células tras irradiación.**



INSTITUTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

**Cimat** Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas

## Retos para el futuro

### ► Efectos no dirigidos in vivo

- ¿Qué relación existe entre los efectos no dirigidos?
- ¿Cuáles son las moléculas implicadas en la señalización?
- ¿Porqué la señal se amplifica en modelos tisulares?
- ¿Cuáles son los receptores de las señales?
- ¿Porqué no existe una relación dosis-respuesta?
- ¿Porqué no todas las células de un tejido responden?
- Significado biológico de los efectos vecindad:
  - ¿Elimina células iniciadas? BUENO
  - ¿Genera células iniciadas? MALO
  - ¿Efectos al azar?
- “Reconciliar” los efectos vecindad de citotoxicidad a dosis bajas con las curvas de supervivencia celular dirigidos?

**Muchas gracias**