Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad.

Estudio financiado por el Consejo de Seguridad Nuclear (BOE-A-2019-311).

UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

Joan Francesc Barquinero Estruch CSN-Madrid - Junio 2026

01

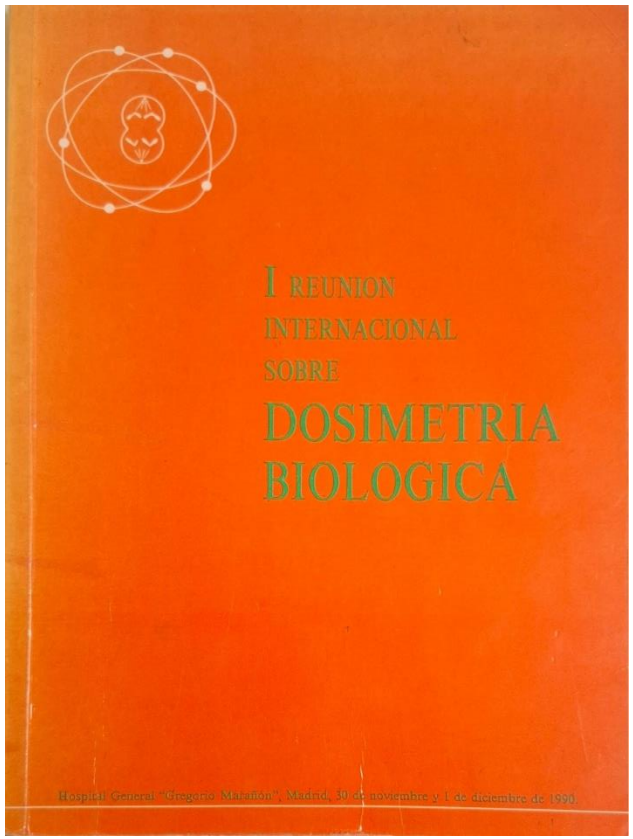
Antecedentes.

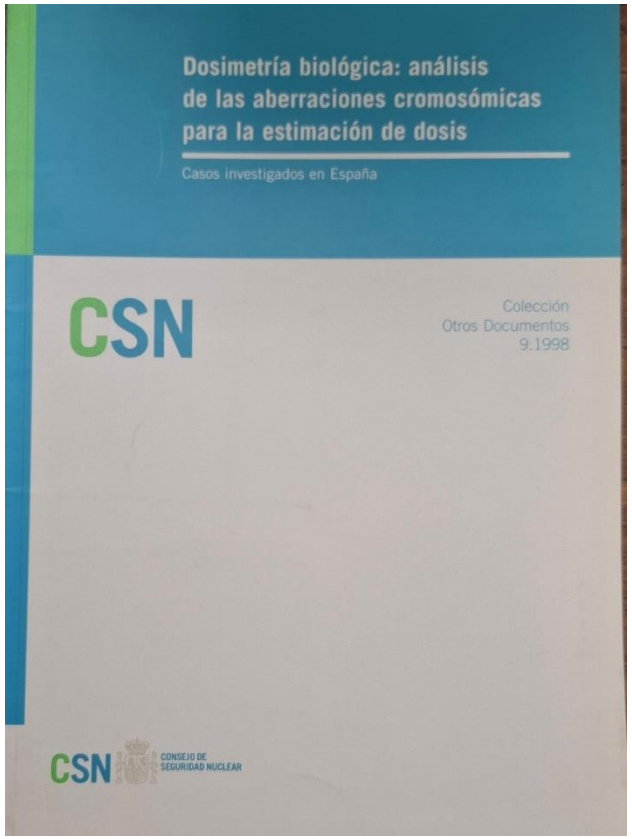
UAB Universitat Autònoma de Barcelona

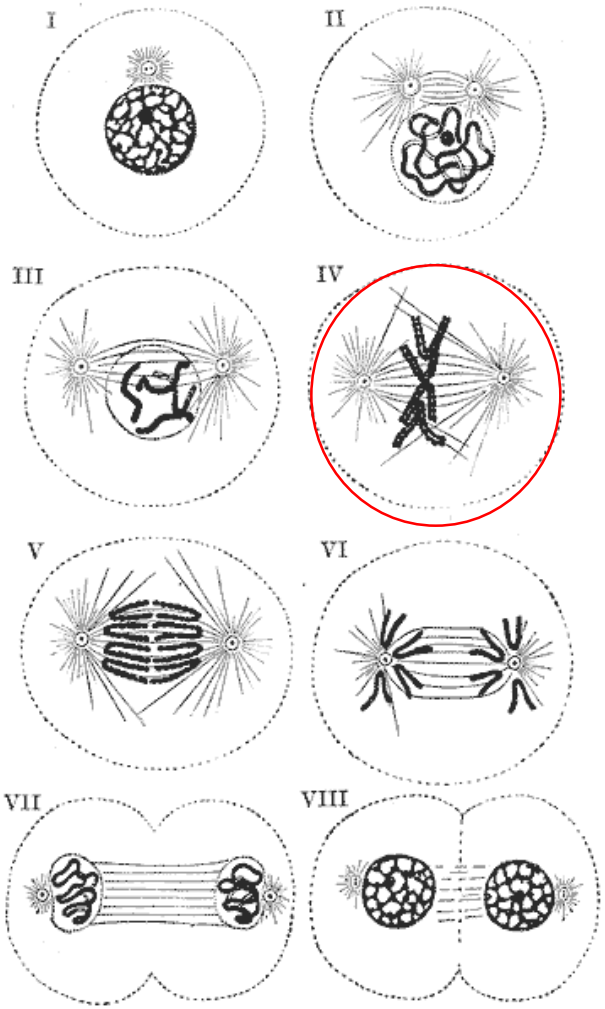
CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

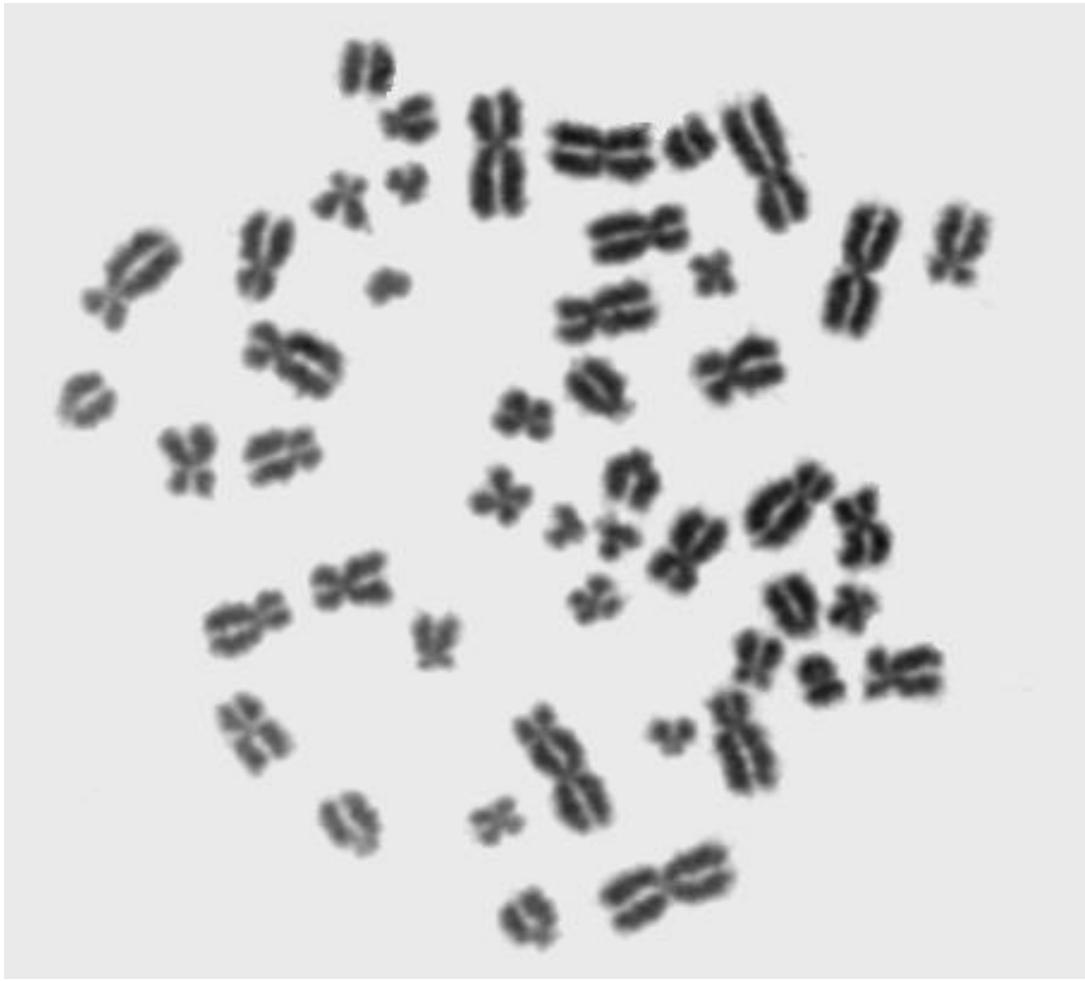
Dosimetría Biológica:

La dosimetría biológica es un método internacionalmente aceptado que permite cuantificar la exposición y realizar una evaluación de la dosis recibida tras una sobreexposición a la RI.



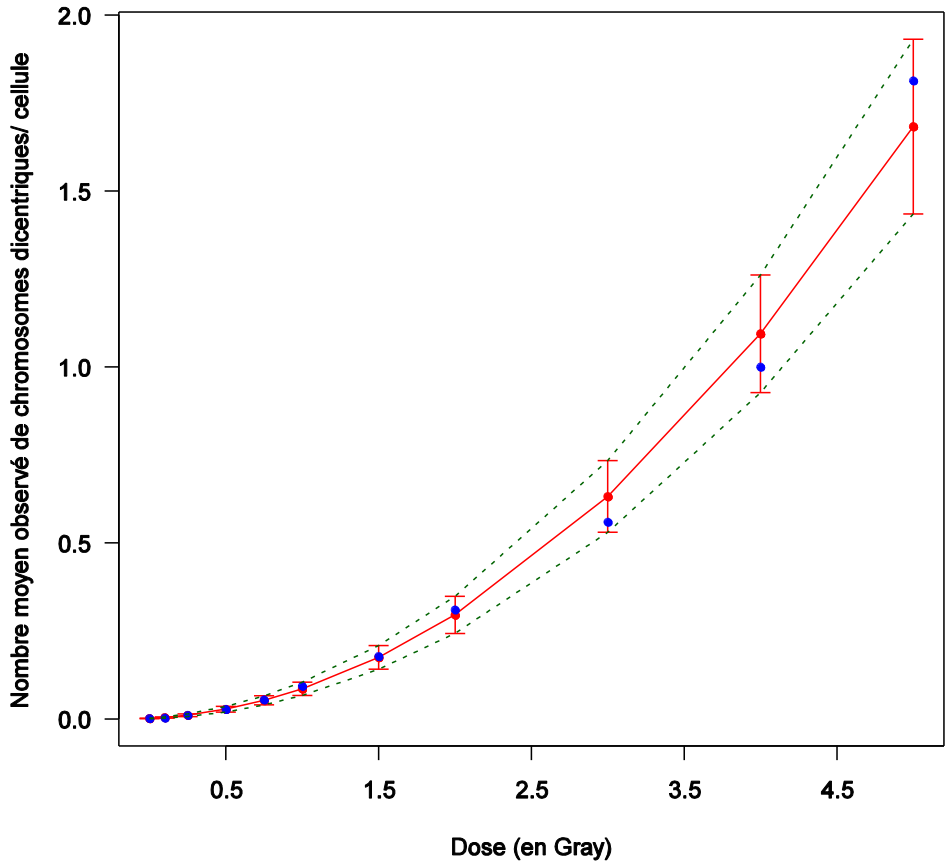



I
II
III
IV
V
VI
VII
VIII

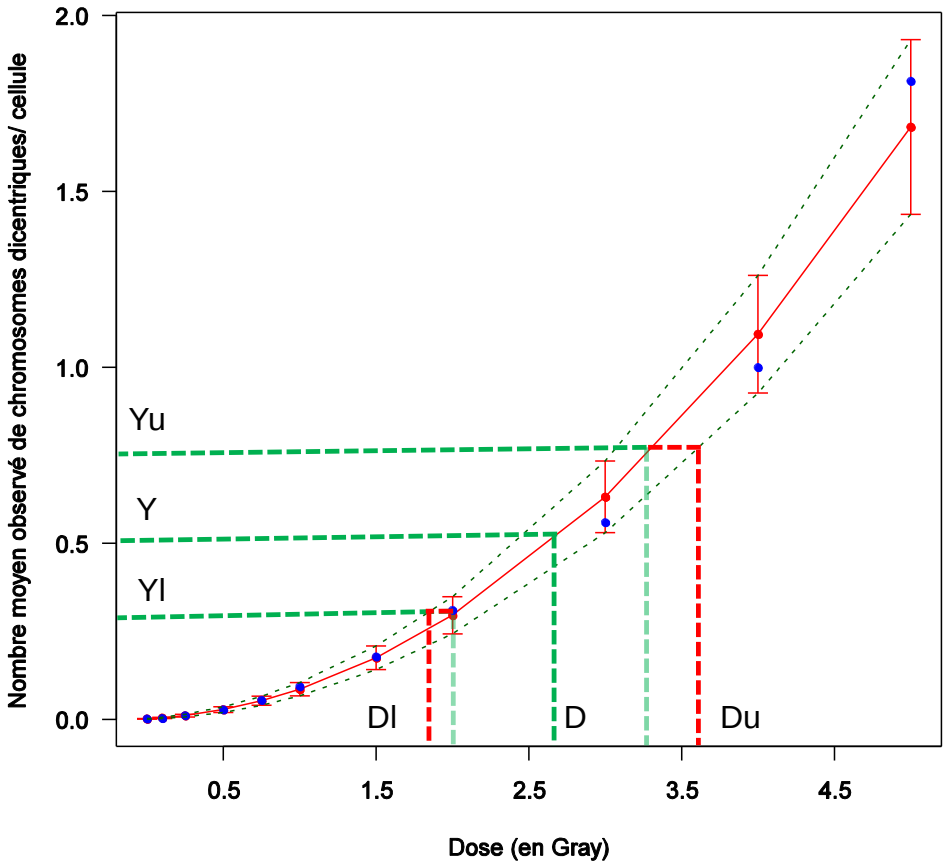


Elaboración de la curva

$$Y = C + \alpha D + \beta D^2$$



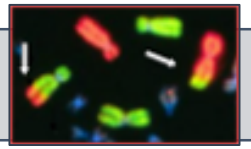
Estimación de una dosis



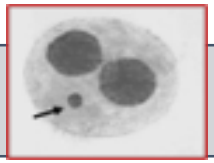
Biomarcadores clásicos de exposición a las RI:

- Cromosomas dicéntricos

- Traslocaciones



- Micronúcleos



- Condensación prematura de cromosomas (PCC)

TARRAGONA

Dos trabajadores de Tarragona, investigados por exposición radioactiva

El CSN califica el suceso como nivel 2 en la escala INES porque dos trabajadores habrían estado expuestos a una dosis superior a la que marca la normativa. Además, la empresa habría incumplido los protocolos de aviso por demorar la notificación del suceso.

17 octubre 2021 20:20 | Actualizado a 22 octubre 2021 05:48

FOTO: DT

Diari de Tarragona 22/10/2021

UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

DANGER RADIATION
DANGER

Establecer redes entre laboratorios

1986, 1987

„**Wake-up calls**“
Chernobyl
Goiania

Networking
Russia,
Belarus,
Ukraine;

Help offered
internationally

Chernobyl Nuclear Disaster (1986): Human Impact Overview

Category	Number of Individuals
Emergency Workers Exposed (>100 mSv)	600
Acute Radiation Syndrome (ARS) Cases	134
Deaths from ARS	28
Total Evacuated	116,000

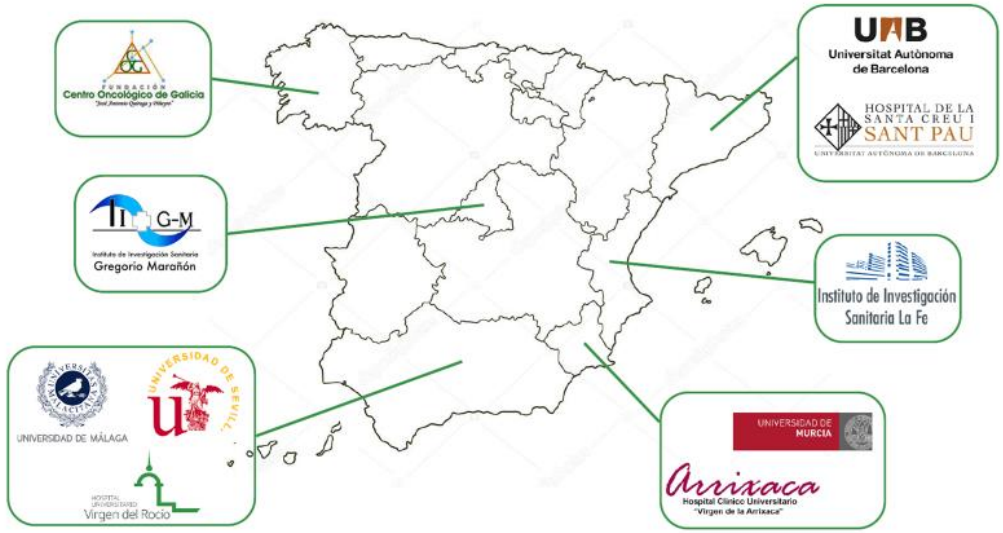
UNSCEAR 2008 Report

Innovación y ex te

Red Española Excelencia Dosimetría Biológica

Desarrollo de un Protocolo Nacional en Dosimetría biológica

25 INVESTIGADORES



INSTITUCIONES

Universidad de Murcia (Investigador Principal: Miguel Alcaraz)
Universidad Autónoma de Barcelona (Investigador Principal: Joan Francesc Barquinero)
Universidad de Sevilla (Investigadora Principal: Inmaculada Domínguez)
Centro Oncológico de Galicia (Investigador Principal: José Luis Fernández)
Hospital Gregorio Marañón de Madrid (Investigadoras Principales: Mercedes Moreno y María Jesús Prieto)
Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia (Investigadora Principal: Alegría Montoro)

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

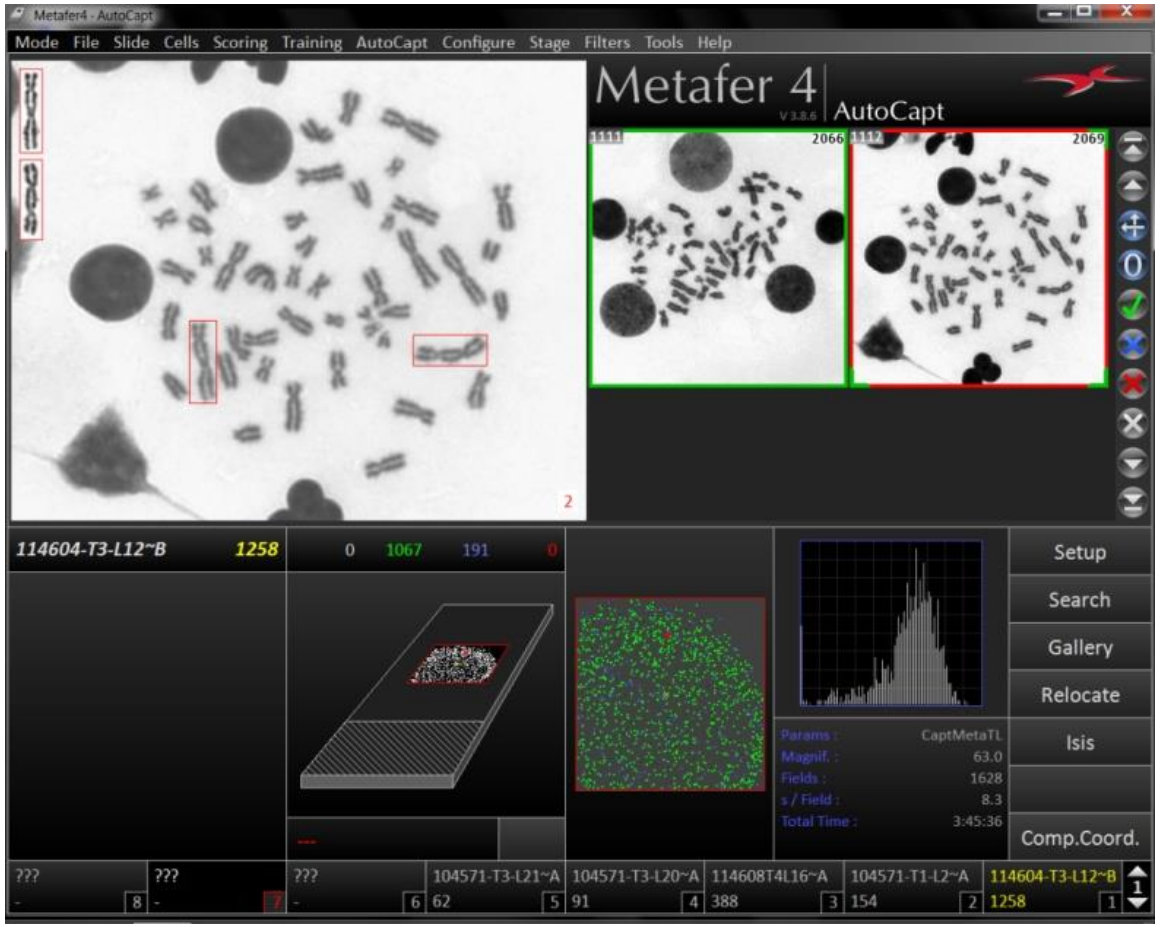
UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

Automatizar el análisis

Una de las tecnologías prometedoras que se están probando actualmente es la automatización de la puntuación de dicéntricos (ADS) mediante el uso del software comercial de análisis de imágenes DCScore™.

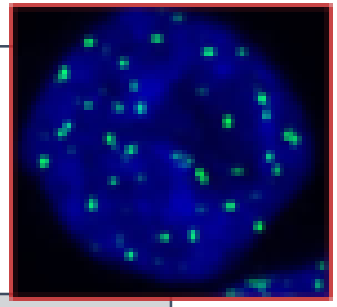
Además, desde la RENEB existe un creciente interés en aplicar técnicas de inteligencia artificial a este ámbito, lo que abre una línea de investigación especialmente interesante y con gran potencial de desarrollo.



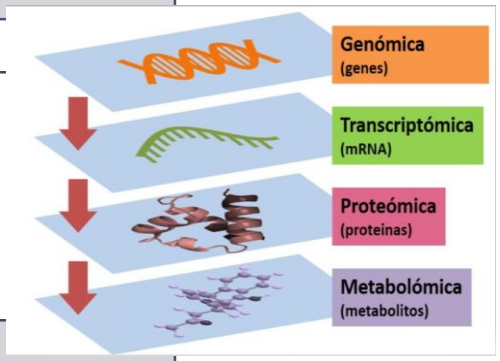
Biomarcadores Moleculares de exposición a las RI:

Basados en el análisis molecular de los efectos causados por las RI:

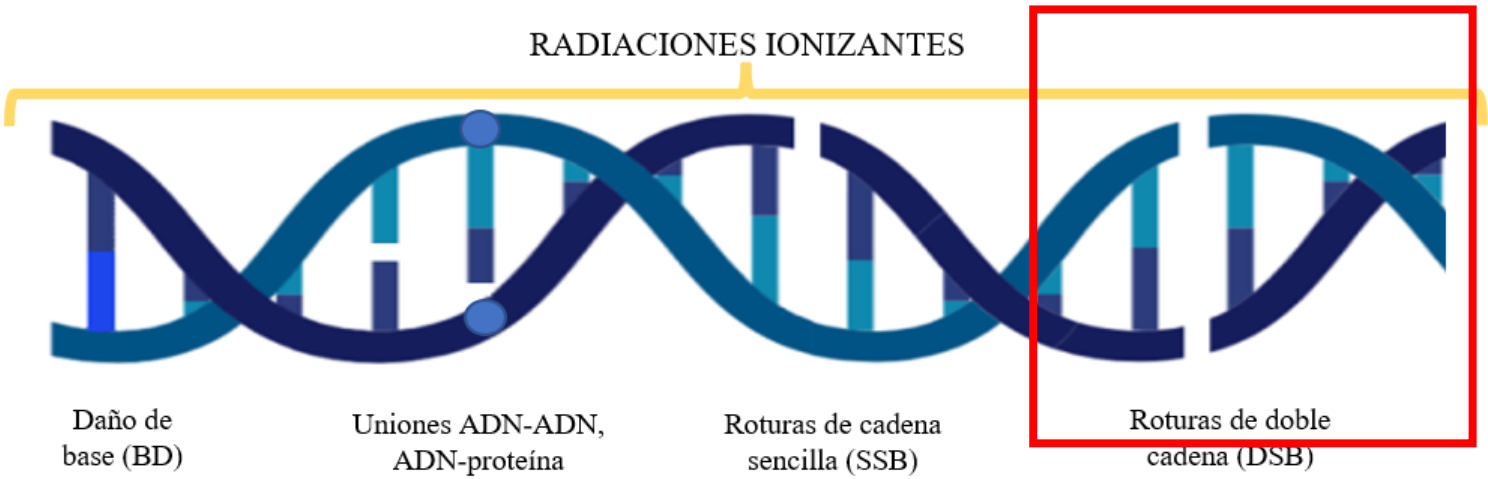
Análisis del Daño inicial del ADN (53BP1,γ-H2AX)



Biomarcadores de alta densidad de datos (Genómica, Proteómica, Transcriptómica, Metabolómica)

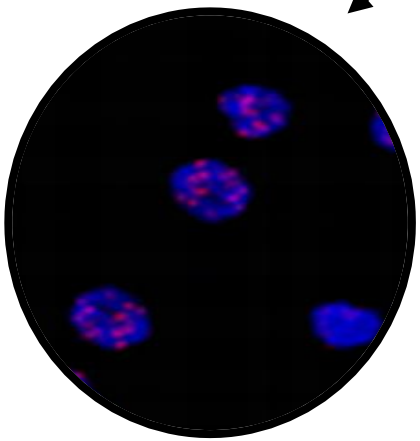


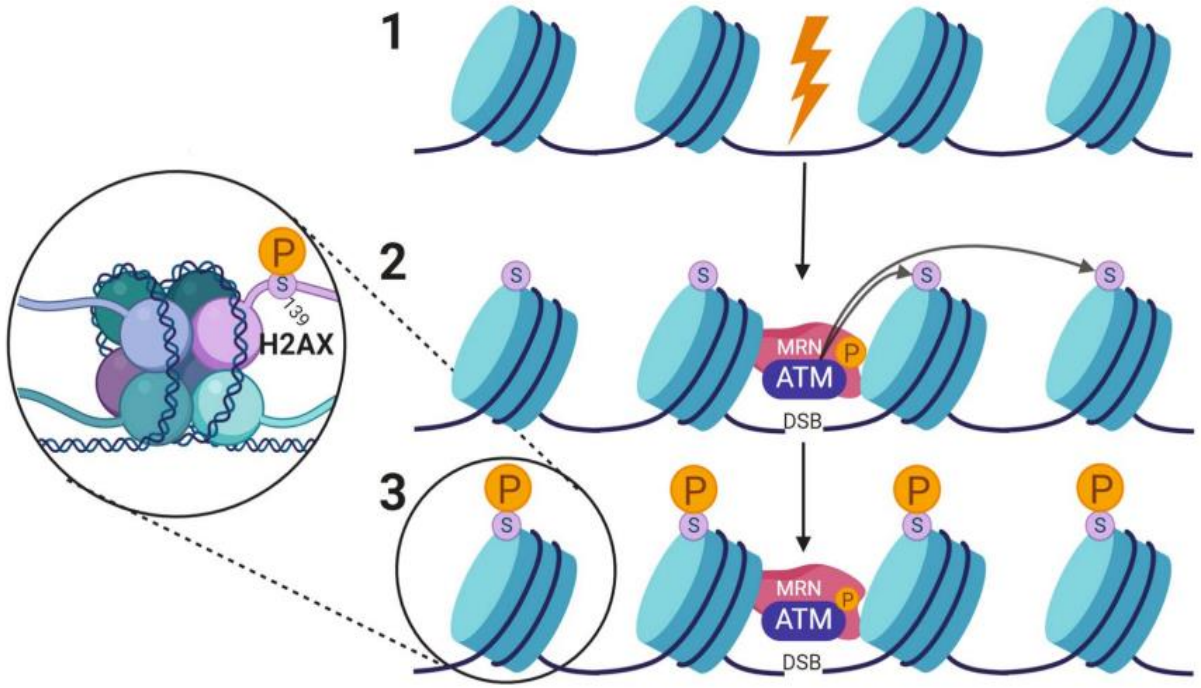
Daño del ADN causado por las RI



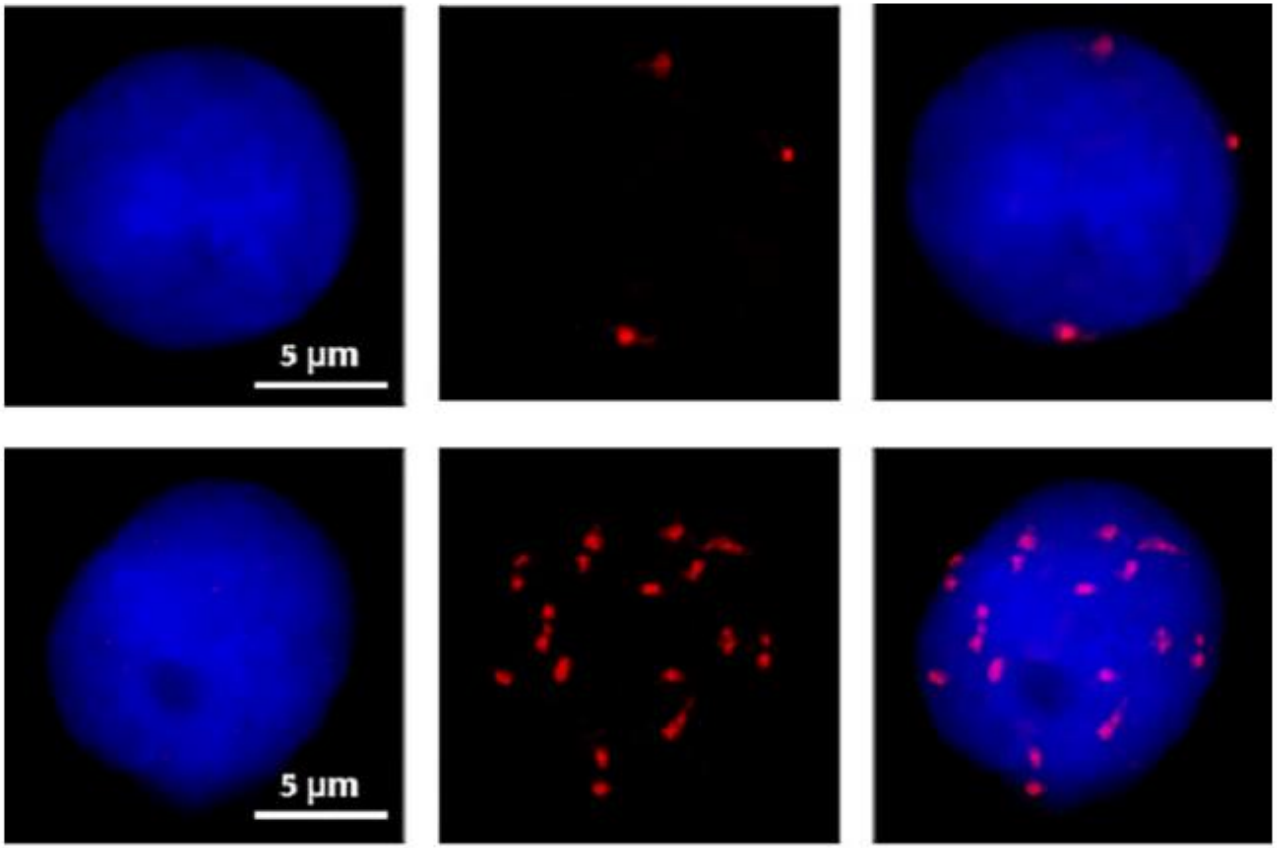
Tipo de daño	Daño de base (BD)	Uniones ADN-ADN, ADN-proteína	Roturas de cadena sencilla (SSB)	Roturas de doble cadena (DSB)
Frecuencia inducida por un Gy	950	150-180	1000	20-40

Fosforilación de la histona H2AX (γ-H2AX)



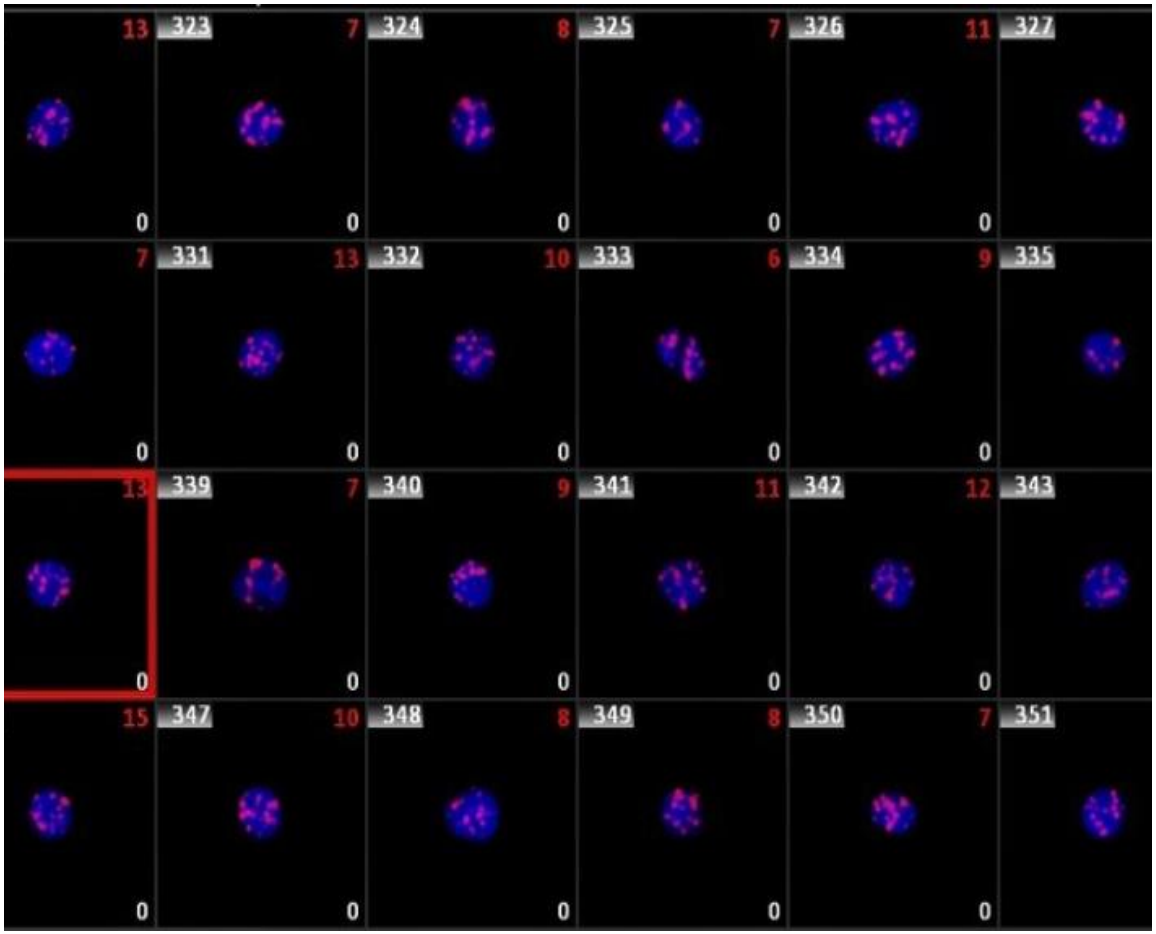


Análisis del daño inicial del ADN:



Núcleo *Foci* γ-H2AX Composición

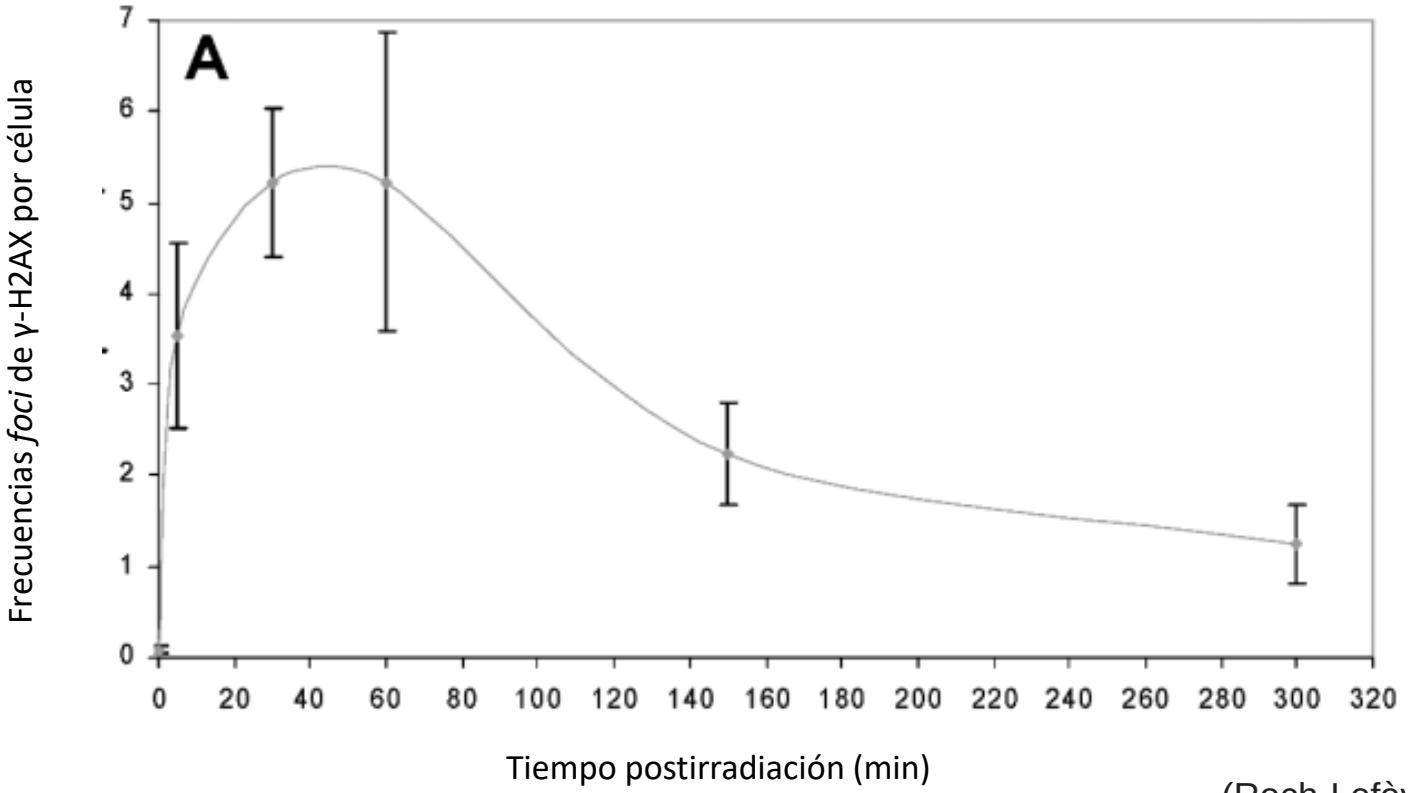
γ-H2AX y dosimetría biológica



- **Ventajas:** Método rápido, sensibles, análisis automático, resultados en menos de 6 h.

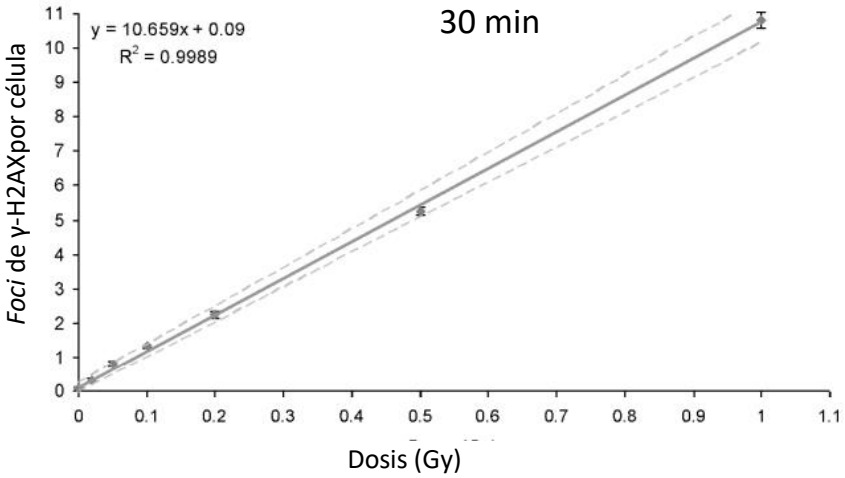
Inconvenientes

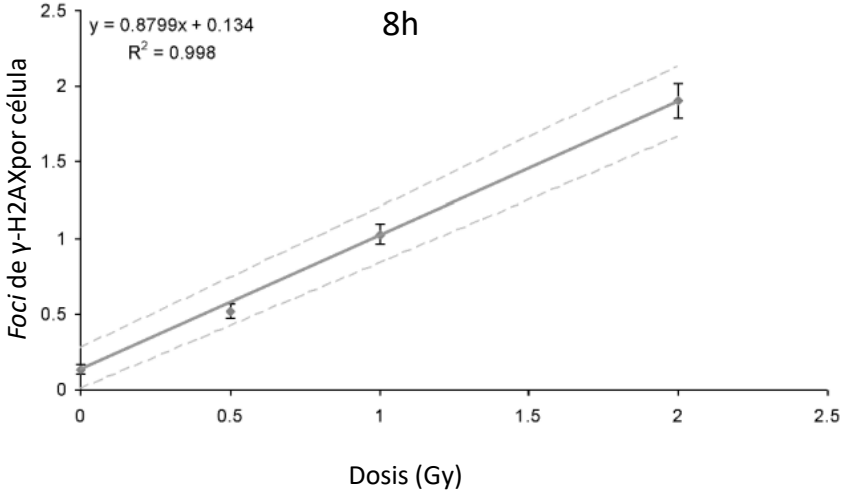
Cinética de desaparición γ-H2AX :

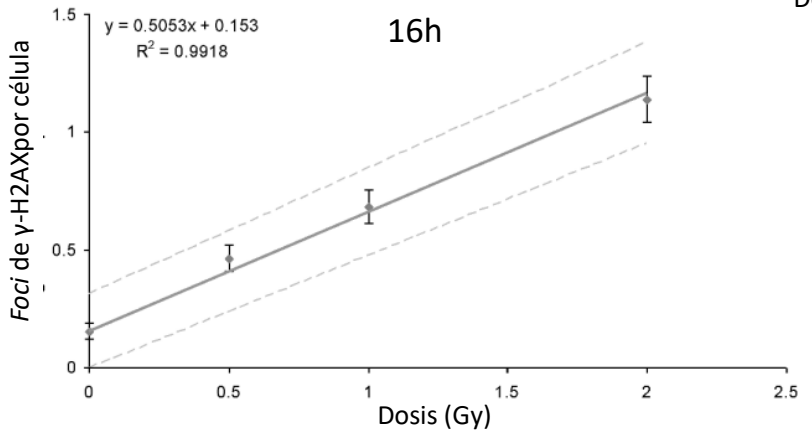


(Roch-Lefèvre S, et al; 2010)

Curvas dosis-efecto γ-H2AX :







(Roch-Lefèvre S, et al; 2010)

02

Objetivos.

UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

Estudio de la relación dosis efecto:

- Irradiar muestras de sangre periférica a dosis de entre 0 y 3 Gy, y evaluar la frecuencia de foci de γ-H2AX a distintos tiempos postirradiación de 0 a 24 h.

- Determinar la relación dosis efecto de foci de γ-H2AX a diferentes tiempos postirradiación.

- **Elaborar de un modelo tridimensional que considere tanto la frecuencia de foci de γ-H2AX como el tiempo postirradiación, y que permita estimar dosis a tiempos distintos de los utilizados en la calibración**.

- **Validar el modelo tridimensional irradiando muestras de sangre periférica a dosis desconocidas analizando los foci de γ-H2AX a diferentes tiempos postirradiación.**

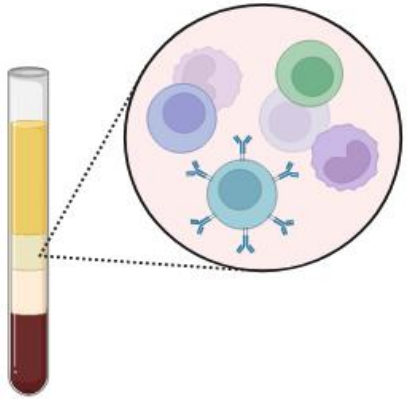
03

Material y Métodos

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

Muestra



- Sangre periférica de un donante sin historial de exposición a la radiación

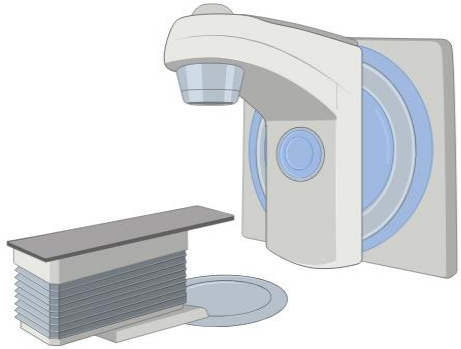
- Aislamiento de PBMC

Irradiación

Acelerador lineal de fotones de 6MV

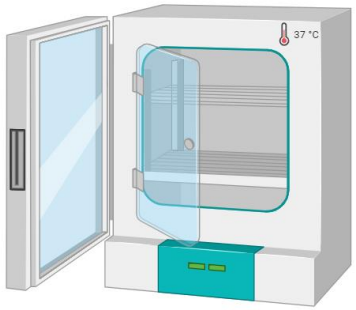
0 0,25 0,5 1 1,5 2 2,5 3

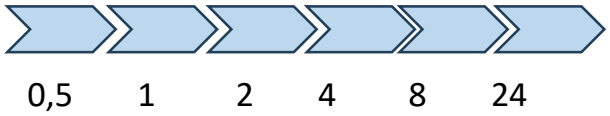
Dosis (Gy)



HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

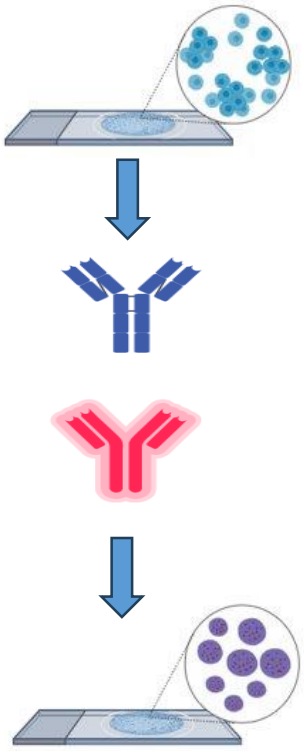
Incubación





Tiempo de incubación (h)

Inmunofluorescencia



Citocentrifugación
Fijación PHA 2%
Permeabilización
Bloqueo

Anti-γH2AX
Anticuerpo primario

Anticuerpo secundario conjugado con CY3

Contratinción con Dapi II

04

Resultados y Discusión

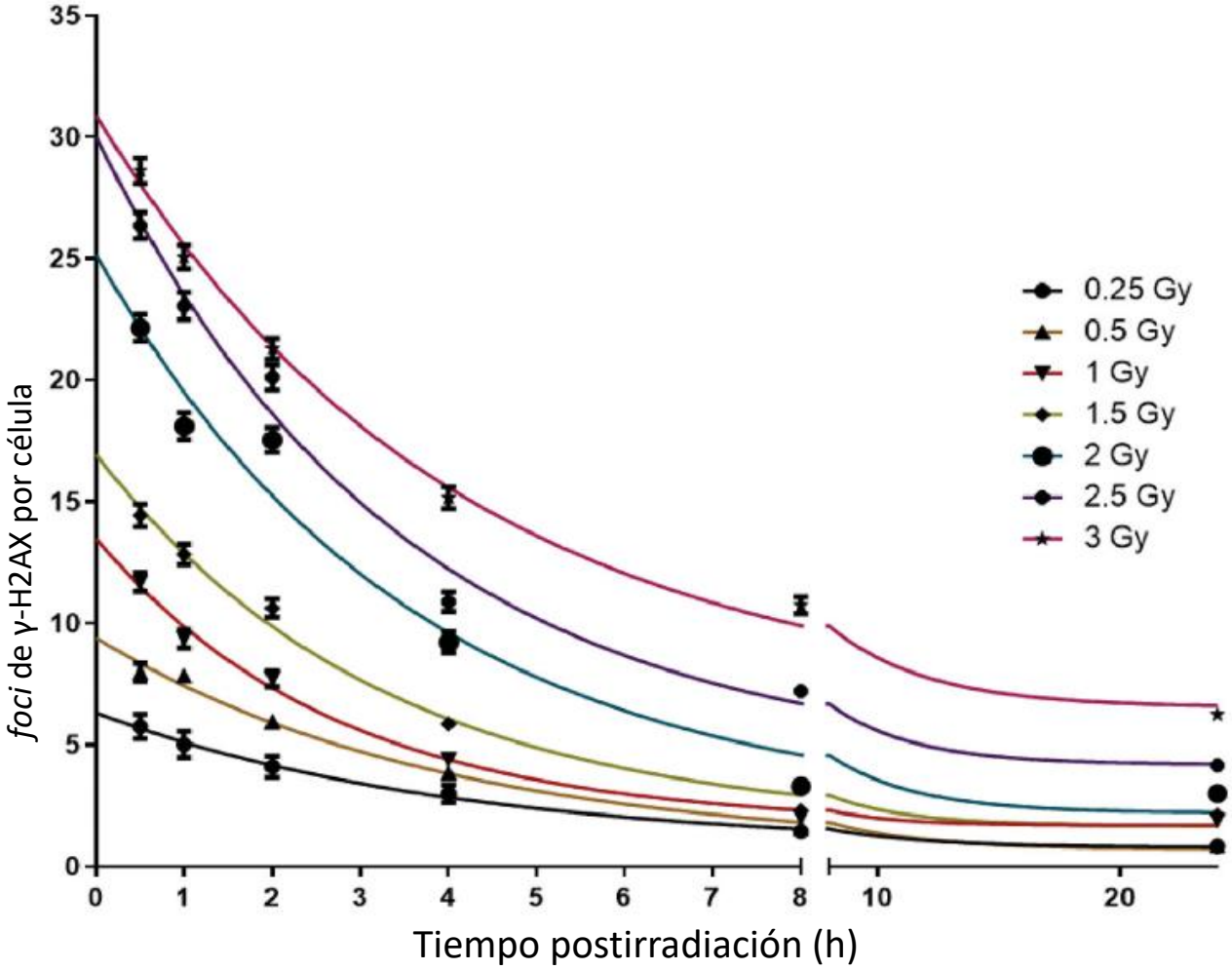
UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

Para cada dosis, frecuencia de foci por célula a los distintos tiempos postirradiación

Dosis (Gy)	Tiempo post-irradiación (h)																					
	0,5				1				2				4				8				24			
	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y
0	1.35	±	0.06	1.45	0.86	±	0.05	1.61	0.80	±	0.05	1.29	0.84	±	0.05	1.48	0.68	±	0.04	1.26	0.71	±	0.04	1.33
0.25	5.75	±	0.28	6.93	5.01	±	0.27	7.30	4.10	±	0.20	4.79	2.99	±	0.18	5.55	1.44	±	0.10*	3.63	0.83	±	0.07*	2.68
0.5	7.98	±	0.38	9.07	7.85	±	0.24	3.79	5.95	±	0.25	5.45	3.84	±	0.20	5.31	1.57	±	0.13*	5.31	0.86	±	0.08*	3.56
1	11.70	±	0.40	6.87	9.37	±	0.38	7.86	7.73	±	0.34	7.51	4.40	±	0.28	9.02	2.02	±	0.14	5.11	1.89	±	0.12	4.11
1.5	14.43	±	0.47	7.67	12.83	±	0.42	6.83	10.62	±	0.39	7.11	5.86	±	0.26	5.89	2.30	±	0.18	7.30	2.12	±	0.17	6.92
2	22.16	±	0.61	8.45	18.11	±	0.59	9.54	17.54	±	0.51	7.28	9.22	±	0.43	9.94	3.30	±	0.23	8.18	3.00	±	0.20	6.34
2.5	26.36	±	0.55	5.64	23.06	±	0.57	7.12	20.13	±	0.52	6.77	10.89	±	0.40	7.39	7.20	±	0.27	4.89	4.15	±	0.22	5.86
3	28.61	±	0.52	4.81	25.06	±	0.48	4.65	21.29	±	0.43	4.29	15.16	±	0.45	6.79	10.73	±	0.35	5.73	6.25	±	0.25	5.09

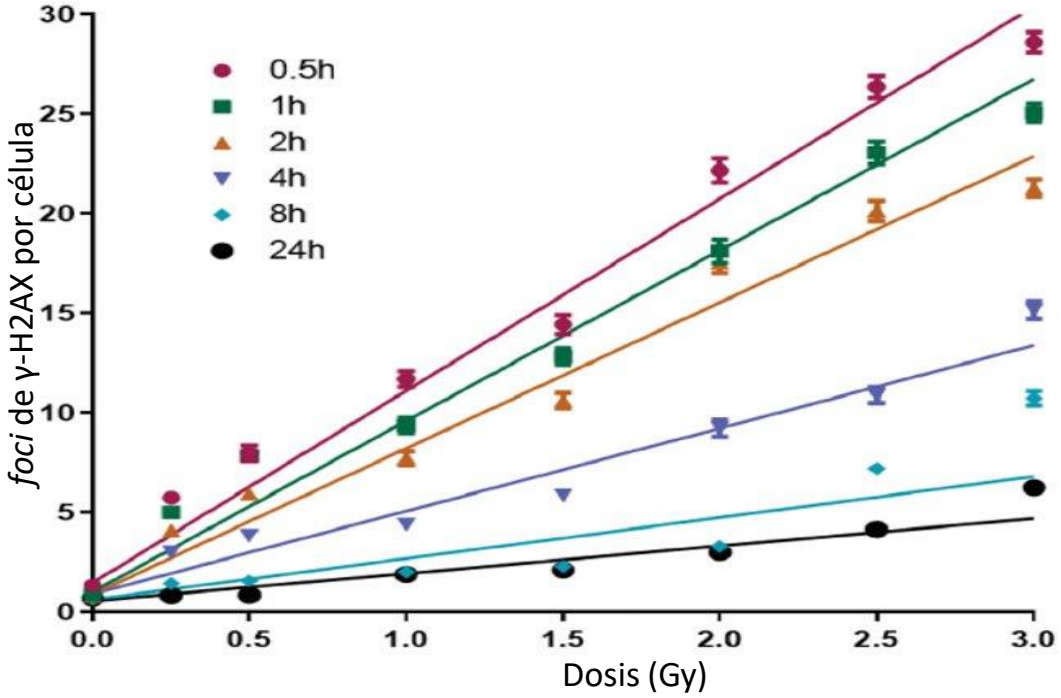
A cada dosis cinética de desaparición



Para cada dosis, frecuencia de foci por célula a los distintos tiempos postirradiación

Dosis (Gy)	Tiempo post-irradiación (h)																					
	0,5				1				2				4				8				24			
	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y	y	±	ES	s^2/y
0	1.35	±	0.06	1.45	0.86	±	0.05	1.61	0.80	±	0.05	1.29	0.84	±	0.05	1.48	0.68	±	0.04	1.26	0.71	±	0.04	1.33
0.25	5.75	±	0.28	6.93	5.01	±	0.27	7.30	4.10	±	0.20	4.79	2.99	±	0.18	5.55	1.44	±	0.10*	3.63	0.83	±	0.07*	2.68
0.5	7.98	±	0.38	9.07	7.85	±	0.24	3.79	5.95	±	0.25	5.45	3.84	±	0.20	5.31	1.57	±	0.13*	5.31	0.86	±	0.08*	3.56
1	11.70	±	0.40	6.87	9.37	±	0.38	7.86	7.73	±	0.34	7.51	4.40	±	0.28	9.02	2.02	±	0.14	5.11	1.89	±	0.12	4.11
1.5	14.43	±	0.47	7.67	12.83	±	0.42	6.83	10.62	±	0.39	7.11	5.86	±	0.26	5.89	2.30	±	0.18	7.30	2.12	±	0.17	6.92
2	22.16	±	0.61	8.45	18.11	±	0.59	9.54	17.54	±	0.51	7.28	9.22	±	0.43	9.94	3.30	±	0.23	8.18	3.00	±	0.20	6.34
2.5	26.36	±	0.55	5.64	23.06	±	0.57	7.12	20.13	±	0.52	6.77	10.89	±	0.40	7.39	7.20	±	0.27	4.89	4.15	±	0.22	5.86
3	28.61	±	0.52	4.81	25.06	±	0.48	4.65	21.29	±	0.43	4.29	15.16	±	0.45	6.79	10.73	±	0.35	5.73	6.25	±	0.25	5.09

Relación dosis efecto linear a los distintos tiempos postirradiación

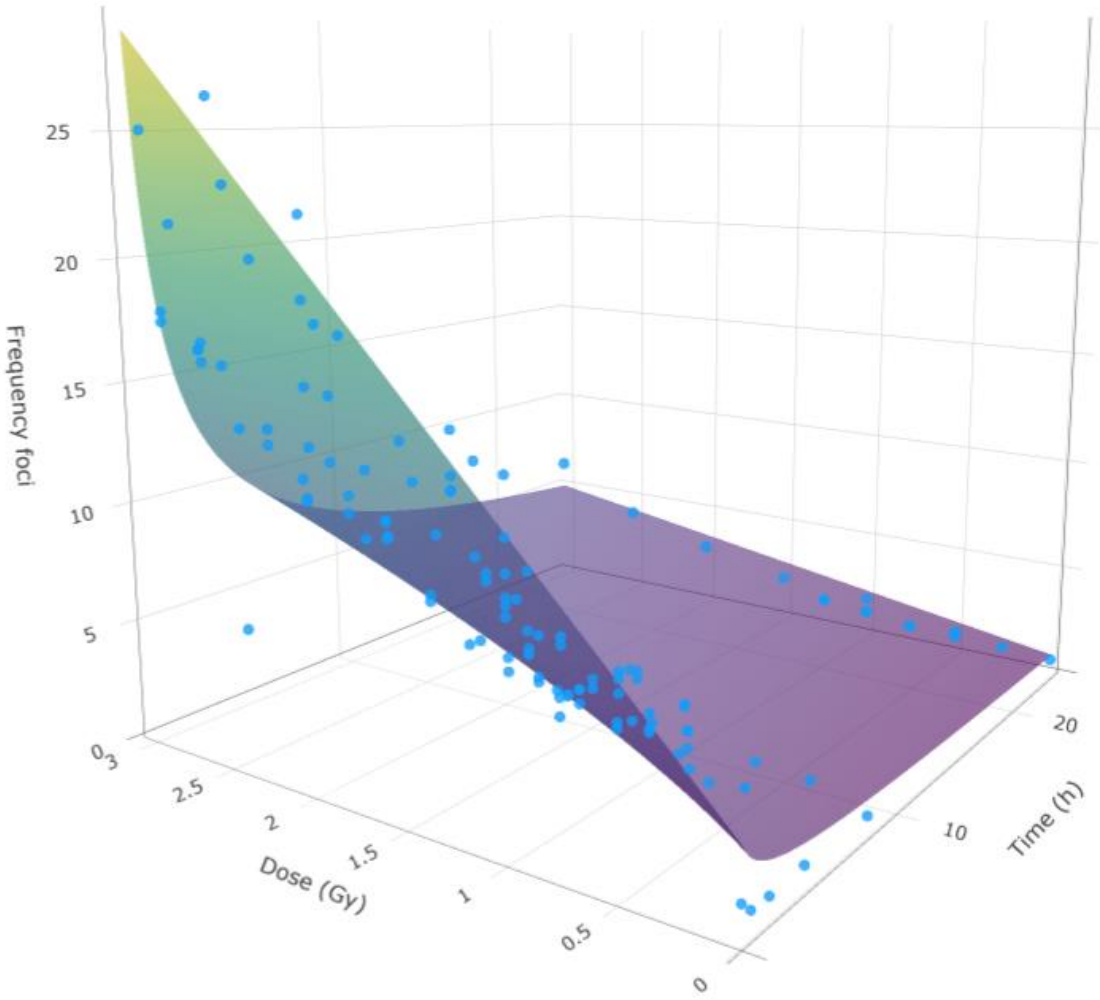


Tiempo (h)	Función (Y=αD)	r^2	p
0,5	Y = 9,46±0,46*D + 1,47±0,25	0,9697	0,0003
1	Y = 8,58±0,60*D + 1,01±0,28	0,9604	0,0006
2	Y = 7,33±0,44*D + 0,89±0,20	0,9513	0,0009
4	Y = 4,16±0,34*D + 0,91±0,19	0,9300	0,0019
8	Y = 2,06±0,40*D + 0,63±0,56	0,9412	0,0013
24	Y = 1,38±0,19*D + 0,26±0,14	0,9584	0,0007

Tiempo postirradiacion en horas (h), Y: frecuencia de *foci* de γ-H2AX, D: dosis, r^2: coeficiente de determinación, p: < 0,05

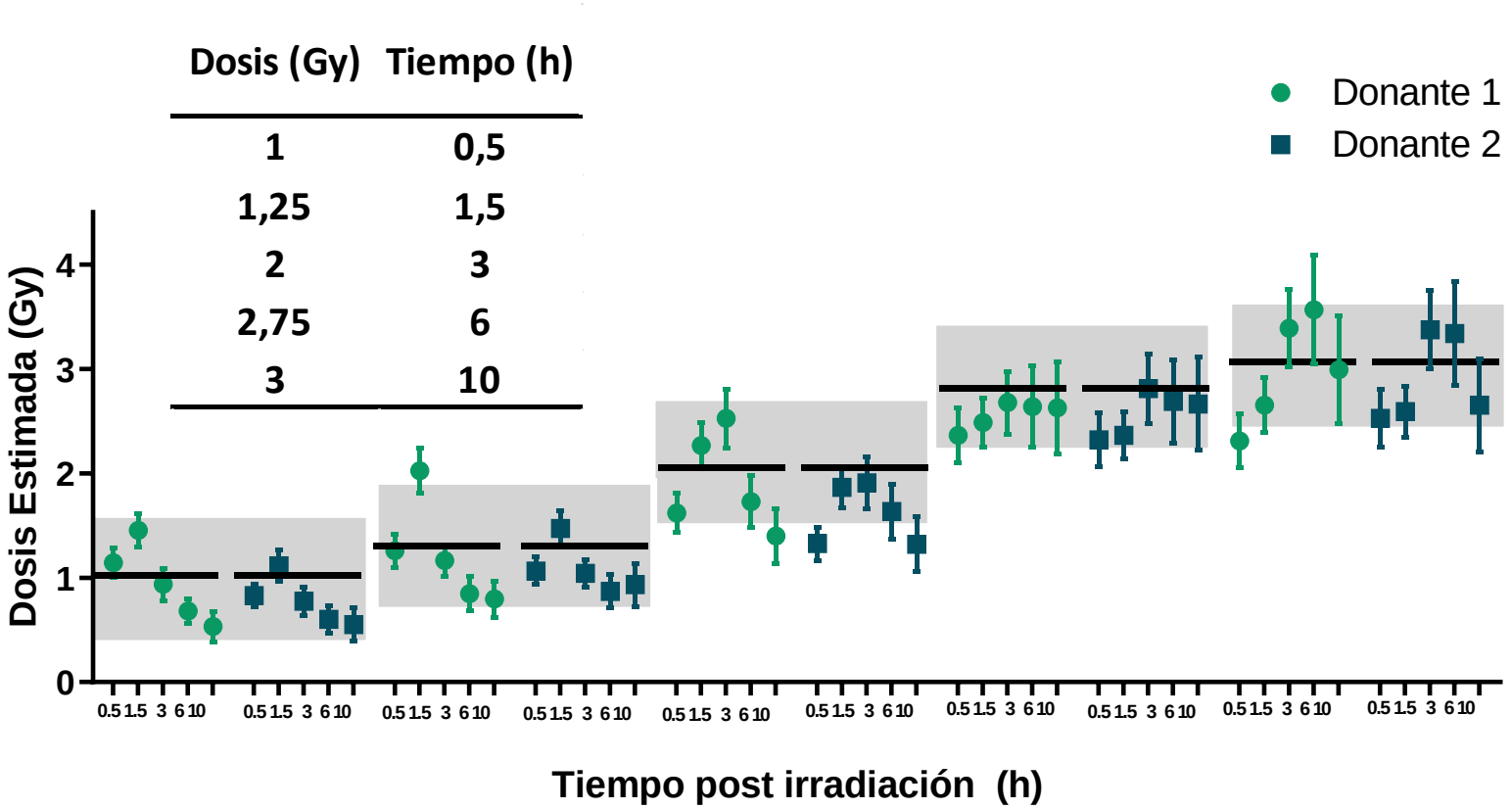
Modelo tridimensional

$$Y = 1{,}15 \pm 0{,}17 \cdot t^{-0{,}29 \pm 0{,}11} + 7{,}73 \pm 0{,}33 \cdot t^{-0{,}50 \pm 0{,}04} \cdot D$$



Validación

Estimaciones Modelo Tridimensional.



05

Y también...

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

EFECTO DE UNA DOSIS DE RADIACIÓN DE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA EN LÍNEAS CELULARES CON DIFERENTE RADIOSENSIBILIDAD

MEDIRAD

Enhance the scientific bases and clinical practice of radiation protection in the medical field.

WP5: improve the direct estimation of cancer risk following low doses o ionizing radiation from CT scanning in childhood and adolescence.

Task 5.2: study potential markers of radiation sensitivity.

Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study

Mark S Pearce, Jane A Salotti, Mark P Little, Kieran McHugh, Choonsik Lee, Kwang Pyo Kim, Nicola L Howe, Cecile M Ronckers, Preetha Rajaraman, Sir Alan W Craft, Louise Parker, Amy Berrington de González

Summary

Background Although CT scans are very useful clinically, potential cancer risks exist from associated ionising radiation, in particular for children who are more radiosensitive than adults. We aimed to assess the excess risk of leukaemia and brain tumours after CT scans in a cohort of children and young adults.

Methods In our retrospective cohort study, we included patients without previous cancer diagnoses who were first examined with CT in National Health Service (NHS) centres in England, Wales, or Scotland (Great Britain) between 1985 and 2002, when they were younger than 22 years of age. We obtained data for cancer incidence, mortality, and loss to follow-up from the NHS Central Registry from Jan 1, 1985, to Dec 31, 2008. We estimated absorbed brain and red bone marrow doses per CT scan in mGy and assessed excess incidence of leukaemia and brain tumours cancer with Poisson relative risk models. To avoid inclusion of CT scans related to cancer diagnosis, follow-up for leukaemia began 2 years after the first CT and for brain tumours 5 years after the first CT.

Findings During follow-up, 74 of 178 604 patients were diagnosed with leukaemia and 135 of 176 587 patients were diagnosed with brain tumours. We noted a positive association between radiation dose from CT scans and leukaemia (excess relative risk [ERR] per mGy 0·036, 95% CI 0·005–0·120; p=0·0097) and brain tumours (0·023, 0·010–0·049; p<0·0001). Compared with patients who received a dose of less than 5 mGy, the relative risk of leukaemia for patients who received a cumulative dose of at least 30 mGy (mean dose 51·13 mGy) was 3·18 (95% CI 1·46–6·94) and the relative risk of brain cancer for patients who received a cumulative dose of 50–74 mGy (mean dose 60·42 mGy) was 2·82 (1·33–6·03).

Interpretation Use of CT scans in children to deliver cumulative doses of about 50 mGy might almost triple the risk of leukaemia and doses of about 60 mGy might triple the risk of brain cancer. Because these cancers are relatively rare, the cumulative absolute risks are small: in the 10 years after the first scan for patients younger than 10 years, one excess case of leukaemia and one excess case of brain tumour per 10 000 head CT scans is estimated to occur. Nevertheless, although clinical benefits should outweigh the small absolute risks, radiation doses from CT scans ought to be kept as low as possible and alternative procedures, which do not involve ionising radiation, should be considered if appropriate.

Lancet 2012; 380: 499–505

Published Online
June 7, 2012
http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60815-0

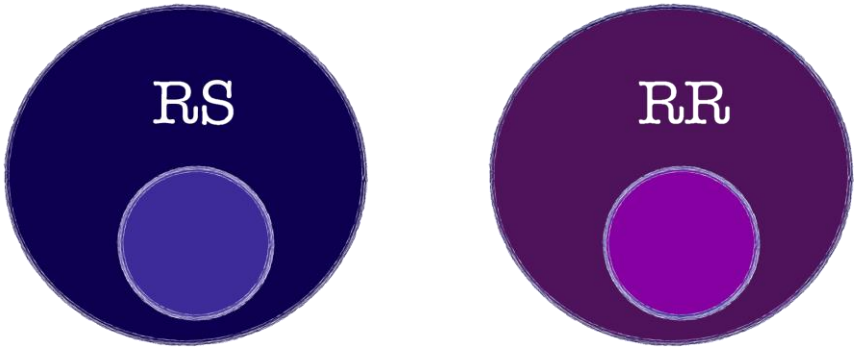
See Comment page 455

See Perspectives page 465

Institute of Health and Society (M S Pearce PhD, J A Salotti PhD, N L Howe MSc) **and Northern Institute of Cancer Research** (Sir A W Craft MD), **Newcastle University, Sir James Spence Institute, Royal Victoria Infirmary, Newcastle upon Tyne, UK; Radiation Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA** (M P Little PhD, C Lee PhD, C M Ronckers PhD, P Rajaraman PhD, A B de González DPhil); **Great Ormond Street Hospital for Children NHS Trust, London, UK** (K McHugh FRCR); **Department of Nuclear Engineering, Kyung Hee University, Gyeongi-Do, South Korea** (K P Kim PhD); **Dutch Childhood Oncology**

OBJETIVO

Evaluar las posibles diferencias en la respuesta a una dosis de radiación de tomografía computarizada en dos líneas celulares linfoblastoides (radiosensibles y radiorresistentes)



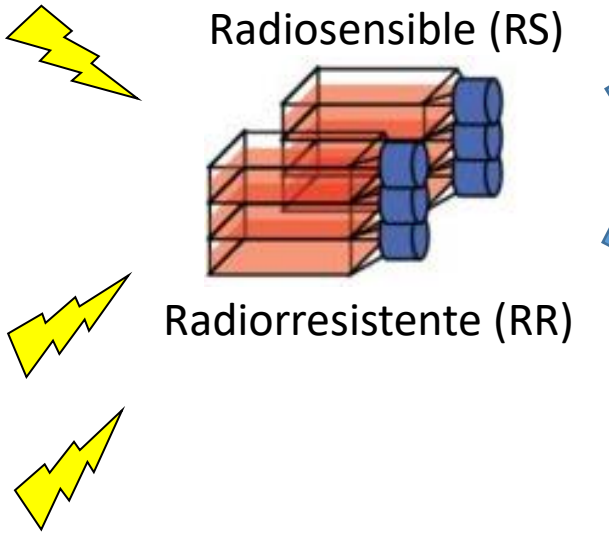
Dos líneas celulares de linfocitos B inmortalizadas por el virus de Epstein-Barr, procedentes de pacientes con cáncer de pulmón, una RS (4060-200) y otra no-RS (20037-200), donadas amablemente por la Dra. Maria Gomolka y la Dra. Sabine Hornhardt de la Oficina Federal Alemana de Protección Radiológica (BfS). Su radiosensibilidad se había evaluado previamente mediante de viabilidad

DISEÑO EXPERIMENTAL

Dosis TC s = 20 mGy

Control positivo = 500 mGy

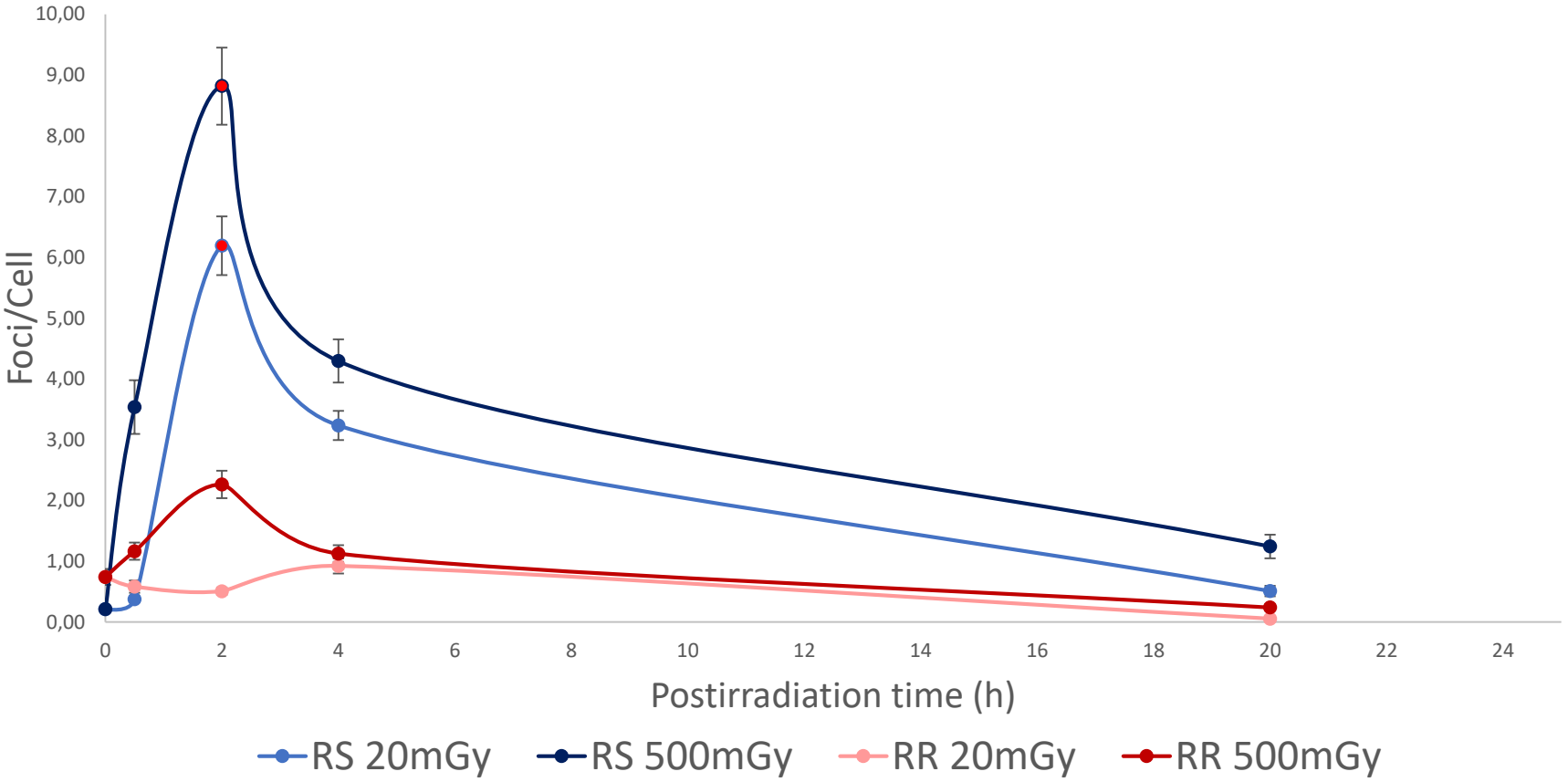
Control negativo = 0 mGy



Perfil de expresión genética

Viabilidad, proliferación y muerte celular

Daño en el ADN y eficiencia de reparación celular



Cinética de γ-H2AX en las líneas celulares RS y RR tras la irradiación a 20 mGy y 500 mGy. El gráfico muestra el número de focos por célula. Los focos de γ-H2AX se contabilizaron a los 30 min, 2, 4 y 20 h después de la irradiación en más de 100 células para cada condición experimental. Los datos se representan como media ± error estándar de la media (SEM).

- Los resultados obtenidos en los estudios realizados por nuestro equipo podrían sugerir que la radiorresistencia a dosis bajas (20 mGy) e intermedias (500 mGy) dependería de las defensas antioxidantes, mientras que la radiorresistencia a dosis más altas (1 y 2 Gy) dependería probablemente de la capacidad de reparación del ADN.

- La reparación errónea del daño en el ADN y la presencia de estrés oxidativo pueden inducir alteraciones cromosómicas, mutaciones en la secuencia e inestabilidad genómica general, lo que podría contribuir a la carcinogénesis.

- Si estudios posteriores confirmaran esta hipótesis, podría plantearse que las personas con variantes genéticas asociadas a una radiosensibilidad diferencial tendrían una mayor predisposición al cáncer tras la exposición a una tomografía computarizada (TC).

- Estos resultados podrían tener relevancia en el paradigma del modelo lineal sin umbral actualmente aceptado en radioprotección.

Detección de foci y-H2AX para uso en Dosimetría Biológica, de Juan Sebastian López Vásquez

Ionizing Radiation: From Molecular And Cellular Responses To Hematologic Malignancy Risk, de Èlia Palma Rojo

Establishment and validation of surface model for biodosimetry based on γ-H2AX foci detection

Juan S. López[a], Mònica Pujol-Canadell[a], Pedro Puig[b,c], Montserrat Ribas[d], Pablo Carrasco[d], Gemma Armengol[a], and Joan F. Barquinero[a] INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION BIOLOGY

Evaluation of γ-H2AX foci distribution among different peripheral blood mononucleated cell subtypes

Juan S. López[a], Mònica Pujol-Canadell[a], Pedro Puig[b,c], Gemma Armengol[a], and Joan Francesc Barquinero[a]

Differential biological effect of low doses of ionizing radiation depending on the radiosensitivity in a cell line model

Elia Palma-Rojo[a], Joan-Francesc Barquinero[a], Jaime Pérez-Alija[b], Juan R. González[c] and Gemma Armengol[a]

Differential Radiosensitizing Effect of 50 nm Gold Nanoparticles in Two Cancer Cell Lines

biology

Miguel Ángel Pérez-Amor [1], Leonardo Barrios [2], Gemma Armengol [1] and Joan Francesc Barquinero [1,*]

Radiation dose estimation with time-since-exposure uncertainty using the γ-H2AX biomarker

Dorota Młynarczyk[1,2], Pedro Puig[1,2], Carmen Armero[3], Virgilio Gómez-Rubio[4], Joan F. Barquinero[5] & Mònica Pujol-Canadell[5]

scientific reports

UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

UAB Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

Gracias por su atención.

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

CSN CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR