

# Efecto Bystander de las radiaciones X usadas en la Imagen Médica

Br. Avelino Mariana

Br. Cardozo Estefanía

Br. García Cindya

Br. Gómez Ana Belén

Br. Guillen Adriana

Orientadora: Dra. Lillo Olga

Laboratorio de Radiobiología.

Depto de Biofísica, Facultad de Medicina – UDELAR

## Índice

Resumen.....	pág. 03
Introducción.....	pág. 04
Discusión.....	pág. 10
Conclusión.....	pág. 12
Bibliografía.....	pág. 12
Anexos.....	pag. 17

## **Resumen**

La evidencia de alteraciones causadas por la radiación ionizante (RI) en células vecinas a las impactadas por la misma ha generado un cambio importante en la concepción clásica de la Radiobiología, con implicancias en el área de la protección radiológica. Se realizó una revisión sistemática sobre el efecto Bystander de las RI. Los efectos en las células vecinas a otras directamente irradiadas incluyen mutaciones, alteraciones genéticas y epigenéticas, apoptosis, liberación de citoquinas entre otros. El efecto Bystander se evidencia con radiaciones de diferente naturaleza y energía, siendo un mecanismo de amplificación del daño por radiaciones que se evidencia a dosis bajas, del orden de los mGy. No se ha encontrado una relación lineal entre la frecuencia mutagénica inducida por este mecanismo y la dosis. Si bien hay diferencias en los niveles de inducción de Bystander con RI de baja y alta TLE, la amplia mayoría de los trabajos científicos sobre efecto Bystander han evidenciado la presencia de un umbral de dosis, así como la saturación del mismo. Los hallazgos de dos décadas de investigación, sugieren fuertemente que la relación dosis-respuesta de tipo lineal considerada para efectos estocásticos en individuos expuestos, no puede ser extrapolada al rango de dosis en el cual el efecto de vecindad tiene un papel preponderante. En el presente trabajo se generó un gráfico esquemático que compara la inducción del efecto Bystander y de efectos estocásticos en relación a la dosis. Adicionalmente se destaca que, los efectos adaptativos de la radiación evidenciados a bajas dosis se presentan también en células vecinas a las impactadas por la RI. Dada la complejidad de los efectos biológicos de bajas dosis de RI y la falta de una cabal comprensión de los mismos, es prudente no cambiar los criterios hasta ahora utilizados con los que se implementa la protección radiológica.

**Palabras Claves:** radiaciones ionizantes de baja TLE, rayos-X, efecto bystander, radioprotección, imagen radiológica.

## **Introducción**

En Medicina se utilizan rayos X para realizar diferentes procedimientos diagnósticos y terapéuticos desde las primeras décadas del siglo pasado. Desde el descubrimiento de los mismos por Röntgen en 1895 se han observado diferentes efectos de las radiaciones a nivel de individuos, así como a nivel celular y molecular.

La radiación es la propagación de energía en el espacio con dirección y sentido. De las radiaciones, las ionizantes (RI) son las que presentan energía suficiente para eyectar electrones fuera de los átomos y así ionizar la materia, generando cambios moleculares a nivel celular. Las RI se pueden clasificar en electromagnéticas (masa nula en reposo) y corpusculares (presentan masa en reposo) como partículas  $\beta^-$ , neutrones, protones y núcleos pesados como las partículas  $\alpha$ . En Medicina se utilizan rayos-X (rX) y rayos-gamma (r $\gamma$ ) a los efectos imagenológicos, que son radiaciones electromagnéticas ionizantes. Los rX son fotones generados por cambios energéticos en orbitales electrónicos y los r $\gamma$  son fotones provenientes del núcleo atómico (Johns y Cunningham, 1983; Frumento, 1995).

El ser humano está expuesto naturalmente a radiaciones ionizantes provenientes de la tierra y del cosmos. Los procedimientos médicos con RI de fuentes construidas por el hombre aumentan la exposición natural mencionada, sometiendo al paciente a los potenciales daños causados por las mismas (por revisión: Lillo, 2012). En la práctica clínica diaria es frecuente la utilización de rX para diagnóstico (radiografía simple, estudios contrastados y tomografía computada) y tratamiento oncológico, estando dicha exposición médica en aumento a nivel mundial, principalmente en los países económicamente desarrollados (Mettler y col, 2008; Schauer y Linton, 2009).

La cantidad de energía depositada por las RI se denomina “dosis” y está directamente relacionada con la cantidad de ionización que genera la misma en los tejidos. La dosis absorbida en un volumen de tejido, es medida en Julios/Kg y la unidad se denomina Gray (Gy) (Johns y Cunningham, 1983; Furmento, 1995; Hall, 2012). La misma cantidad de energía absorbida (Gy) proveniente de diferentes tipos de radiaciones genera diferente nivel de daño biológico. Por consiguiente la unidad Gy no es la más adecuada para comparar daños generados por exposición a diversas radiaciones. La eficacia relativa para causar daño en un mismo tejido está relacionada con la transferencia lineal de energía (TLE) de las diferentes radiaciones. Se ha clasificado a las radiaciones en dos grupos según su densidad de ionización: de alta TLE (ej: neutrones, protones y partículas alfa) y de baja TLE (electrones, rX y r $\gamma$ ). La transferencia lineal de energía es la energía promedio liberada por micra ( $\mu$ ) de recorrido del haz de radiación y se mide en KeV/ $\mu$  (Johns y Cunningham, 1983; Lillo 2012). En relación a la protección radiológica se pondera el valor de Dosis Absorbida (en Gy) por un factor que depende de la TLE de la radiación y de la eficacia biológica, llegando al concepto de Dosis

Equivalente. La dosis equivalente es una cantidad dosimétrica obtenida de la multiplicación de la dosis absorbida por un factor dependiente del tipo de la radiación y su unidad es el Sievert (Sv). A su vez, los diferentes tejidos tienen diferente radiosensibilidad a iguales dosis en Gy de la misma radiación, por lo que se requiere una ponderación adicional por un factor de sensibilidad relativa a carcinogénesis que dependerá de cada tejido irradiado. Llegamos así al concepto de Dosis Efectiva que también tiene como unidad al Sv. La Dosis Efectiva es una medida de riesgo biológico debido a una exposición, o a la suma de varias exposiciones (medidas en Gy), a una determinada radiación en un tejido específico (por revisión: ICRP-60, 1991; ICRP-103, 2007; Lillo 2012). Los valores de Dosis Efectiva se pueden sumar para evaluar el riesgo carcinogénico global por la exposición a diferentes radiaciones y en diferentes localizaciones corporales.

Los efectos de las radiaciones ionizantes observados a nivel del individuo se han clasificado en determinísticos y estocásticos (ICRP, 1991; Lillo, 2012; Hall 2012). Los efectos determinísticos (cataratas, descamación de piel, eritema, depilación, etc) se relacionan con la muerte celular; poseen un umbral de dosis donde a dosis menores al umbral no se observan cambios en la función del órgano; la severidad de los mismos aumenta con la dosis que desencadenó el efecto. Los efectos estocásticos, mutagénesis y carcinogénesis, tienen cierta probabilidad de ocurrencia que aumenta linealmente con la dosis y se considera que no presentan umbral (Hall y Giaccia, 2012; Lillo, 2012; por revisión crítica: Hamada y Fujimichi, 2014).

En relación al efecto biológico de las RI, desde hace dos décadas se estudia la inducción de daño biológico en células no irradiadas que reciben señales de células impactadas directamente por la radiación. La evidencia de este efecto, denominado efecto de vecindad (en inglés: bystander effect), es un desafío para el paradigma clásico de la Radiobiología basado en la Teoría del Blanco según la cual las células dañadas eran exclusivamente aquellas impactadas por la radiación (por revisión: Kiefer, 1990; Nias, 1990; Nomiya, 2013). Las primeras evidencias clínicas de que las RI pueden tener efecto en tejidos alejados del blanco irradiado (efecto abscopal) fueron descritas en la primera mitad del siglo pasado para tratamientos oncológicos de melanoma, linfoma y cáncer renal, en los que irradiando el tumor primario desaparecieron las metástasis (Coogle, 1983). Adicionalmente se evidenciaron alteraciones en células de la médula ósea de niños con leucemia, en quienes se había realizado tratamiento radiante exclusivamente sobre el bazo (Pearson, 1954). Resulta interesante la disminución significativa de lesiones de hepatocarcinoma primario, con la irradiación localizada de metástasis ósea a nivel torácico. Este efecto abscopal de regresión del carcinoma se relacionó con la respuesta inmune del organismo a la RI (Ohba y col, 1998). El efecto abscopal está relacionado con los tratamientos radiantes, es observado poco frecuentemente y en él

no profundizaremos.

Los primeros trabajos que evidenciaron in vitro el efecto Bystander de las RI fueron realizados con partículas alfa y dosis de 0.3 a 2.5 mGy (Nagasawa y Little, 1992). Estos autores evidenciaron que irradiando 1% de las células cultivadas (ovario de hámster chino) obtenían intercambio de cromátidas hermanas en 30 % de las mismas. Para evaluar el rendimiento (de intercambios de cromátidas hermanas) equivalente al mencionado, pero con rX, debían usar dosis de 2 Gy. Actualmente hay un número creciente de reportes que indican características diferentes en los efectos de vecindad inducidos por fotones de alta TLE que por radiaciones de baja TLE.

En experimentación animal se evidenció que la inyección de plasma proveniente de ratones u ovejas irradiados, aumentaba la incidencia de cáncer mamario respecto de los animales inyectados con plasma proveniente de ejemplares no irradiados (Souto, 1962). Posteriormente se observó actividad clastogénica por el plasma extraído de personas expuestas en el área de Chernobyl (Emerit y col, 1994). Adicionales trabajos in vitro (con  $\gamma$  del  $^{60}\text{Co}$ ) confirmaron que la irradiación de medios sin células presentaba nulo efecto clastogénico (Mothersill y Seymour, 1997; Seymour y Mothersill, 2000), demostrando que la inducción de efectos en células no directamente impactadas por la radiación proviene de señales generadas en las células irradiadas y no del medio irradiado. Esta propiedad se adjudicó a la presencia de factores solubles en plasma.

En fibroblastos humanos normales se evidenció efecto bystander utilizando haces de núcleos de carbono y evaluando aparición de micronúcleos en células vecinas no irradiadas. Este efecto fue menor en las células pre-tratadas con DMSO (elimina especies reactivas del oxígeno) y completamente abolido en las células pre-tratadas con lindano (inhibidor de la comunicación intercelular a través de las uniones gap) (Shao, Furusaway col, 2003). Las mismas influencias del DMSO y lindano se observaron sobre el efecto bystander inducido por radiaciones  $\beta$  (Bishayee y col, 1999). En experimentación animal se observó que la inestabilidad genómica inducida por RI a través del efecto bystander, se distingue de las anomalías citogenéticas clásicas (por impacto directo de la RI) y consiste en la permanencia, y a menudo en la acumulación, a través de las sucesivas generaciones de cambios cromosómicos citogenéticamente detectables (re-arreglos) y mutaciones (Hall y Hei, 2003; Grandi y Moccaldi, 2005).

Particularmente en relación al trasplante de médula ósea irradiada en animales (Lorimore y Wright, 2003), se sugiere que las células originalmente irradiadas propagan señales a las stem cell no irradiadas y que éstas transmiten inestabilidad cromosómica a su progenie. También se ha evidenciado un efecto potenciador de la carcinogénesis química por efecto bystander de las RI (Lord y Woolford, 2002) a través de la producción y difusión por parte de las células irradiadas de

factores solubles capaces de inducir inestabilidad genómica en células vecinas activamente proliferantes dirigiéndolas hacia el desarrollo de neoplasia.

El efecto bystander se ha encontrado vinculado al proceso de transformación maligna, en experimentos en los cuales con solo irradiar del 10% al 25% de las células cultivadas se obtuvo la misma frecuencia de transformación que impactando en todas las células con la radiación (Sawant y col, 2001; Brenner, Sachs, 2003). Observaciones in vitro muestran que la mutagénesis inducida por efecto bystander presenta gran variabilidad en relación al individuo origen de la muestra: hay variabilidad según sexo, hábito de fumar y presencia de neoplasia en el individuo (Grandi y Moccaldi, 2005).

Se ha demostrado que estos efectos tienen importancia a bajas dosis de radiaciones de alta TLE (Nagasawa y Little, 1992), pero la población humana se expone en medicina principalmente a radiaciones de baja TLE. En particular los efectos de vecindad inducidos por fotones dependen fuertemente de la dosis, de la región irradiada de las células blanco (o células diana) y del nivel de expresión del gen p53 (Tomita y Maeda, 2015). Dichos efectos serían inducidos por señales liberadas por las células que sufrieron directamente el impacto de la partícula o el fotón. Sin embargo en las células con uniones gap se observa con mayor magnitud el efecto bystander debido que por éstas ocurre la transferencia directa de señales radio-inducidas (Jalal y col, 2014).

Pocos minutos después de la irradiación se detectan rápidos cambios, en las células vecinas a las irradiadas, relacionados con mutaciones, expresión de vías de reparación del ADN, control del ciclo celular y enzimas vinculadas con la proliferación celular (Wang y col, 2013). Esto incluye la inestabilidad genómica, la re-combinación génica, mutagénesis, inestabilidad nucleotídica, transformación y muerte celular. Los efectos indirectos celulares son el resultado de mediadores liberados en el medio extracelular que luego mediante vías de señalización generarán daño en el ADN.

Muchos estudios han demostrado, a nivel celular o en modelos animales, que la exposición a muy bajas dosis o baja tasa de dosis de RI, induce mecanismos que protegen contra los efectos perjudiciales de otros agentes, incluyendo la radiación (Azzam y col, 1994; Wolfe, 1998; Feinendegen, 1999). Las dosis de RI de pre-exposición efectiva para la respuesta adaptativa es del orden de 50 a 200 mGy por exposición única de radiación de baja TLE. Por encima de 200 mGy el efecto declina y se anula por completo a 0,5 Gy (Grandi y Moccaldi, 2005). La irradiación de los fibroblastos humanos normales del pulmón a dosis de 10 mGy de radiación  $\gamma$  y la posterior transferencia del sobrenadante a células no irradiadas les asigna a éstas mayor resistencia (en términos de supervivencia clonal) a la posterior irradiación con 2 y 4 Gy (Iyer y Lehnert, 2002).

Durante el efecto Bystander el desencadenante de la respuesta inmune es el daño causado por las radiaciones ionizantes en células cercanas a las irradiadas. Existe además una activación de los linfocitos y macrófagos que liberan citoquinas tales como IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa) y TGF- $\beta$  (factor de crecimiento fibroblástico beta). Las citoquinas actúan como mediadores de la respuesta inflamatoria, y están involucrados en una variedad de actividades celulares, incluyendo la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis. Las principales citoquinas proinflamatorias que participan en el Bystander son TNF, IL-1 e IL-6 que son fundamentales para la respuesta inflamatoria aguda. Los macrófagos tisulares y mastocitos son las principales fuentes productoras de estas tres, así como las células epiteliales y endoteliales también contribuyen a la producción de IL-1 y 6. El factor de TNF- $\alpha$  se incrementa notoriamente luego de la exposición a las radiaciones llevando a necrosis y muerte de las células tumorales, esto no ocurre en células normales. Éste y otras citoquinas migran al sitio de inflamación aumentando la producción de óxido nítrico posteriormente derivando en lesiones por estrés oxidativo. Así mismo se mostró la participación del óxido nítrico en el efecto bystander (Shao, Furusawa y col, 2002; Shao, Stewart y col, 2003). Pueden inducir la expresión génica, muerte celular o ambas. La actividad de las citoquinas genera un daño cromosómico, cambios en las bases del ADN, mutagénesis y apoptosis en células no irradiadas (Abbul y col, 2012). Estas aumentan la expresión de genes tales como: Proteín quinasa activada por mitógenos (MAPKs), Factor nuclear Kappa B (NFkB), Oxido Nítrico sintasa inducible (iNOS) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2). Estos genes a su vez conducen a la inflamación y la producción de oxido nítrico, señal biológica y reguladora en el cuerpo humano (Najafi y Col 2014). Concomitantemente los radicales pueden ser generados por proceso de oxido reducción tales como los inducidos por las radiaciones ionizantes (RI), exposición a rayos ultravioletas, entre otros. En presencia de oxígeno estos radicales son convertidos a peróxidos, que a pesar de ser menos reactivos que los anteriores, tienen una vida media más larga afectando a células lejanas a las irradiadas (Najafi y col, 2014; Ward, 2002) (ver Anexo 1).

Junto con las especies reactivas del oxígeno las RI producen especies reactivas del nitrógeno (ERN) oxidando y nitrando moléculas, formando anión peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), elemento de gran citotoxicidad, responsable directo de la lisis celular. También se evidenció que por efecto bystander (a dosis del orden de pocos mGy) pueden ser inducidas dobles roturas del ADN, habiendo sido éstas puestas de manifiesto por la detección de histonas fosforiladas  $\gamma$ -H2AX (Rothkamm y Lobrich, 2003). Los moduladores epigenéticos incluyen cambios en la expresión génica sin producir alteraciones en la secuencia del ADN, pero si en su actividad. Se generan mediante moléculas y reacciones de metilación y desmetilación que pueden transmitirse genéticamente a la descendencia.



Los ARN no codificantes juegan un papel importante en estas alteraciones por reducción de genes de expresión. Otras alteraciones se dan sobre proteínas tales como histonas que se unen al ADN para darle forma específica. Está demostrado que las radiaciones electromagnéticas ionizantes ( $\alpha$  y  $\gamma$ ) pueden afectar los patrones de metilación generando inestabilidad genómica. El efecto Bystander puede generar gran cantidad de alteraciones genéticas incluyendo anomalías cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, supresiones, transcripciones, mutaciones, expresiones de genes y apoptosis debido a la irregularidad en el nivel de metilación (Najafi y Col 2014; Rothkamm y Lobrich, 2003). La progresión de los ciclos celulares se ve alterada en presencia de genes supresores tumorales, tanto de forma reversible como irreversible (muerte celular) y de manera directa e indirecta de complejo de ciclinas. En células normales si el ADN no está íntegro (8 hs después de una irradiación) la transición G1/S se retarda, permitiendo la reparación del genoma. Hay evidencia que en el efecto Bystander induce up-regulation del gen p53 (Staudacher y col, 2010).

Como es conocido, el actual enfoque de radioprotección seguido por reconocidos organismos internacionales (ej: International Commission on Radiological Protection [ICRP], United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation [UNSCEAR], International Atomic Energy Agency [IAEA]) implica la aceptación de la extrapolación lineal de "altas" y "medias" dosis (del orden de los Gy), a dosis "bajas" (del orden de los mGy) en relación a la inducción de efectos estocásticos. Este enfoque de precaución tiene como punto de partida los datos radioepidemiológicos disponibles de la cohorte de sobrevivientes de Hiroshima y Nagasaki, de pacientes sometidos a radioterapia y de las cohortes de trabajadores expuestos por razones profesionales (accidentes) (Bernar y col, 2009). Estos modelos de riesgo son proyectivos y no se basan en la observación directa, y se adopta a los solos efectos de estimar riesgo con un enfoque prudente. La existencia de efecto Bystander a nivel experimental in Vitro está en consonancia con los enfoques proteccionistas a nivel clínico inspirados en la cautela.

La evidencia de la multiplicidad de procesos involucrados en la respuesta de vecindad a la exposición de RI ha generado un importante cambio de paradigma en el área de la Radiobiología (Brooks, 2005; Mothersil y Seymour, 2006; Averbeck, 2010; Hatzi y col, 2015).

La incertidumbre es grande para la relación dosis-efecto con dosis equivalentes menores de 100-200 mSv (Grandi y Moccaldi, 2005). Los resultados experimentales sugieren fuertemente que en este intervalo de dosis la relación dosis-respuesta es más compleja que la simple extrapolación lineal de los efectos estocásticos en individuos. En conjunto, los datos experimentales in vitro para bajas dosis indican: hipersensibilidad a la radiación, respuesta adaptativa por efecto directo de RI o efecto

de vecindad. Con los resultados hasta ahora obtenidos se bosquejan graficas que esquematizan las posibles relaciones dosis-respuesta alejadas de la linealidad (Morgan y Sowa, 2009). Es muy importante profundizar la evaluación cuantitativa de riesgo para exposiciones a dosis bajas de RI, con proyecciones en la práctica médica.

## **Discusión**

Desde Hiroshima y Nagasaki y luego de Chernobyl hay preocupación creciente sobre los efectos nocivos de las RI sobre seres humanos y la naturaleza. En los últimos 25 años ha aumentado la preocupación en relación a la exposición de la población por los procedimientos médicos habituales con las mismas (International Commission on Radiological Protection, documentos: ICRP-60, 1991; ICRP-103, 2007; ICRP-105, 2007). Esto lleva a plantear la pregunta sobre cuáles podrían ser las implicancias en la radiología convencional en la práctica clínica en vistas a la radioprotección tanto del paciente como de los trabajadores. ¿Cuál es el nivel de dosis de exposición para la óptima relación beneficio/riesgo? Actualmente existe un número creciente en la indicación de Tomografías Computadas y otros estudios de radio-imagen. Estos estudios se realizan con dosis que están por debajo del umbral para efectos determinísticos, y con dosis que presentan muy baja probabilidad de eventos estocásticos (asumiendo relación lineal entre la probabilidad de ocurrencia y dosis). La importancia del efecto Bystander a bajas dosis y baja transferencia lineal de energía pone en discusión la extrapolación de la linealidad encontrada para individuos expuestos a grandes dosis. En este trabajo se mostraron los trabajos que presentan cuantificación de efecto Bystander con una amplia variedad de radiaciones y dosis de las mismas a nivel celular y de tejidos. Con las energías de rayos X (del orden de las decenas de KeV) y dosis utilizadas en radiología (del orden de los mGy) aun no es posible cuantificar el riesgo por efecto Bystander en seres humanos. No se ha establecido para la variable “frecuencia mutagénica” por efecto Bystander una relación lineal con la dosis para radiaciones de baja o de alta TLE (Kadhim y col, 2013).

La presencia de efecto bystander y sus características parecen depender del tipo y dosis de radiación y del tipo celular irradiado. Mothersil y Seymour demostraron la inducción de muerte por efecto bystander en queratinocitos con  $\gamma$  de Co-60 entre 0.01 y 5 Gy y evidenciaron que la intensidad del efecto bystander mencionado no variaba con la dosis de RI en ese rango de dosis; observaron además que ente 0.01 y 0.5 Gy la muerte observada era exclusivamente generada por efecto bystander. Entre 5 mGy y 5 Gy había un cambio en la relación dosis – respuesta, pero no significativo. Trabajos con  $\gamma$  de Co-60 [E: 1.25 Mev] (tasa de dosis entre 2.7 y 7 mGy/h) no encontraron muerte celular por impacto directo ni por bystander por debajo de 2 mGy y sugieren

que hay un umbral de dosis para efecto bystander de 2-3 mGy (Tomita y Maeda, 2015). Sin embargo varios estudios encontraron inducción de aumento de la sobrevivencia por bystander en células no irradiadas y puestas en contacto con medio proveniente de células (neoplásicas, fibroblastos normales) irradiadas con rX 200 KeV (1-11 Gy),  $\gamma$  de Cs-137 (0.5-20 Gy) (Tomita y Maeda, 2015). La alteración del p53, o de las enzimas relacionadas con su función, da una gran flexibilidad a la célula para responder a señales extrínsecas y/o adaptarse mejor al medio. La mejor comprensión del proceso de alteración de p53 inducido por efecto bystander, aportará a la evaluación de riesgo radiológico en Medicina (Jaiswal y Lindqvist, 2015). En el caso de las radiaciones ionizantes el p53 actúa reparando el daño genómico ocasionado por radiación directa o efecto bystander. Si bien en células vecinas a las impactadas por la RI se han visto resultados de amplificación tanto de los efectos de alteración genómicos y epigenómicos, como de adaptación, no se ha evidenciado un aumento de los eventos carcinogénicos por bystander (Prise y col 2003). Aunque Jaiswal y Lindqvist (2015) afirman que la inestabilidad genómica inducida por bystander está implicada en el proceso carcinogénico. Los fenómenos bystander se dan predominantemente con dosis por debajo de los 0.2 Gy, y posteriormente presenta saturación del efecto (Prise y col 2003) (ver Anexo 2). Por otro lado, se ha demostrado que el medio condicionado a partir de irradiación con rX de células madre de médula ósea humana y de las células madre embrionarias no inducen efecto bystander en células en términos de inducción de daño en el ADN ni la muerte celular apoptótica (Sokolov y Neumann, 2010). Esto demuestra que el efecto Bystander no es universal y que puede variar según el modelo experimental, las condiciones del tratamiento aplicado, las condiciones del cultivo e incluso la fase del ciclo celular en el que se encuentran las células (Jalal y col, 2014). Estos efectos en la actualidad son estudiados mediante diversas técnicas experimentales las cuales fueron realizadas a baja y alta TLE, observándose que a baja TLE ocurrían cambios celulares con la misma intensidad que a alta TLE (Rödel F, 2015). Rödel F evaluó el efecto Bystander inducido por dosis entre 0.3 y 1 Gy. Dentro de los cambios celulares observados se encontraron mutaciones, daño celular, inducción de transformación maligna, modificación de la expresión génica y apoptosis. La complejidad del efecto bystander da cuenta de su relevancia. El principal desafío ha sido la aplicación de los hallazgos en células vecinas a las impactadas por la radiación al área de protección radiológica (Saraví, 2009). Se debe jerarquizar en esta área de la medicina tener una adecuada comprensión de los nuevos conocimientos, evaluando críticamente continuar o cambiar los criterios hasta ahora adoptados en la práctica médica con RI (Martin y col, 2009). La variedad de efectos celulares inducidos por bajas dosis de RI de baja TLE continúa en estudio. Por esto es pertinente profundizar en los aspectos radiobiológicos que se encuentran en juego en los procedimientos con

rX habitualmente realizados. Es importante que el médico tenga los conocimientos generales a los efectos de realizar un adecuado balance beneficio riesgo en el acto de prescripción.

### **Conclusión**

El campo de investigación del bystander en seres humanos se encuentra incipiente. De la revisión sistemática realizada se concluye la participación de procesos inducidos por efecto Bystander en el metabolismo de los tejidos irradiados y los vecinos. El efecto Bystander de las RI se destaca a dosis bajas, de RI de baja o alta TLE. Se ha observado una gran variedad de efectos de vecindad nocivos como adaptativos, de hipersensibilidad o de radio-resistencia, presentando un fenómeno de saturación a partir de 0.2-0.5 Gy aproximadamente. Dado que a bajas dosis se induce este proceso de amplificación del efecto de las RI, se estudia su relación con la carcinogénesis. Con la evidencia científica acumulada hasta ahora, no parece adecuado extrapolar la linealidad encontrada para carcinogénesis en Hiroshima y Nagasaki o en accidentes radiológicos. Si bien se debe tomar en consideración la evidencia científica acumulada hasta ahora en relación al efecto Bystander, dicha evidencia no es suficiente para modificar las medidas de salud pública en relación a procedimientos médicos con radiaciones ionizantes.

Los efectos nocivos de las radiaciones ionizantes deben tenerse en cuenta ya que en la actualidad hay una tendencia a la utilización desmedida de radio-imagen diagnóstica en la práctica clínica diaria, principalmente en servicios de emergencia.

### **Bibliografía**

- Abbul K. Abbas y col. “Inmunología celular y molecular”, séptima edición, ELSEVIER, España, 2012.
- Averbeck D. Non-targeted effects as a paradigm breaking evidence. *Mutat Res*, 2010; 687, 7–12.
- Azzam E I, Raaphorst G P y Mitchel R E J. Radiation-induced adaptive response for protection against micronucleus formation and neoplastic transformation in C3H 10t 1/2 mouse embryo *Radiat. Res*1994; 138 S28–31
- Bernar J, Gómez A, García F, Fernández A. Efectos biológicos de la exposición a dosis bajas de radiación ionizante. Asociación Española de la Industria Eléctrica UNESA. 2009.
- Bishyee A, Rao DV, Howell RW. Evidence for pronounced bystander effects caused by non-uniform distributions of radioactivity using a novel three-dimensional tissue culture model. *Radiat Res* 1999; 152: 88-97.
- Blyth BJ, Azzam EI, Howell RW et al. An adoptive transfer method to detect low-dose radiation

- induced bystander effects in vivo. *Radiat Res* 2010; 173:125–37.
- Brenner DJ, Sachs RK. Domestic radon risks may be dominated by bystander effects - but the risks are unlikely to be greater than we thought. *Health Phys* 2003; 85: 103-108.
  - Brooks A. Paradigm shifts in radiation Biology: their impact n intervention for radiation-induced disease. *Radiation Research*, 2005; 164, 454-461.
  - Coogle JE. *Biological Effects of Radiation*. Taylor & Francis Ltd. London, 1983.
  - Emerit I, Levy A, Cernjavski L, Arutyunyan R, Oganessian N, Pogosian A. Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994; 120: 558-561.
  - Feinendegen L E. The role of adaptive responses to exposure ionizing radiation *Hum. Exp. Toxicol.* 1999; 18, 426–32.
  - Frumento A. S. *Biofisica*. Tercer Edición, Mosby/Doyma Libros,1995.
  - Grandi C, Moccaldi R. Effetto bystander: rassegna critica e implicazioni per la valutazione del rischio in radioprotezione. *G ItalMedLav Erg* 2005; 27:1, 21-34.
  - Hall EJ, Hei TK. Genomic instability and bystander effects induced by high-LET radiation. *Oncogene* 2003; 22: 7034-7042.
  - Hall E, Giaccia A. *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincot Company Ed. 2012.
  - Hamada N, Fujimichi Y. Clasification of radiation effects for dose limitation purposes: history, current situation and future prospects. *Journal of radiation research*. 2014; 55, 629-640.
  - Hatz V, Laskaratou D, Mavragani I, y col. Non-targeted radiation effects in vivo: A critical glance of the future in radiobiology. *Cancer Letters*, 2015; 356, 34–42.
  - International Commission on Radiological Protection. Publication 60, Ann. ICRP 21, 1991.
  - International Commission on Radiological Protection. Publication 103, Ann. ICRP 37, 2007.
  - International Commission on Radiological Protection. Publication 105, Ann. ICRP 37, 2007.
  - Iyer R, Lehnert BE. Low dose, low-LET ionizing radiation-induced radioadaptation and associated early responses in unirradiated cells. *Mutat Res* 2002; 503: 1-9.
  - Jaiswal H, Lindqvist A. Bystander communication and cell cycle decisions after DNA damage. *Frontiers in genetics*, 2015; 6:63.
  - Jalal N, Haq S, Anwar N, Nazeer S, Saeed U. Radiation induced bystander effect and DNA damage. *J Can Res Ther*, 2014; Vol 10 (4), 819 - 833.
  - Johns HE, Cunningham JR. *The Physics of Radiology*. 4ªedición, Charles C. Thomas publicaciones, USA, 1983.

- Kadhim M, Salomaa S, Wright E, Hildebrandt G, Belyakov O, Prise KM, Little M. Non-targeted effects of ionizing radiation—implications for low dose risk. *Mutat Res*, 2013 ; 752(1), 84–98.
- Kiefer J. Theoretical Models of Cellular Radiation Action. En: Biological Radiation Effects. Jürgen Kiefer ed. Springer-Verlag, Berlin. 264- 285,1990.
- Lillo O. Biofísica de Radiaciones Ionizantes – Aplicaciones en Medicina. Uruguay: Facultad de Medicina. Oficina del Libro, 2012.
- Lord BI, Woolford LB. Induction of stem cell cycling in mice increases their sensitivity to a chemical leukaemogen: implications for inherited genomic instability and the bystander effect. *Mutat Res* 2002; 501, 13-17.
- Lorimore SA, Wright EG. Radiation-induced genomic instability and bystander effects: related inflammatory-type responses to radiation-induced stress and injury? A review. *Int J Radiat Biol*, 2003; 79, 15-25.
- Martin CJ, Sutton DG, West CM, Wright EG. The radiobiology/radiation protection interface in healthcare. *J Radiol Prot*, 2009; Volumen 29: A1-A20.
- Mettler FA, Thomadsen BR, Bhargavan M, y col. Medical Radiation exposure in the U.S. in 2006: Preliminary results. *Health Physics*, 2008; 95: 502-507.
- Mole RH. Whole body irradiation—radiobiology or medicine? *Br J Radiol*, 1953; 26, 234-241.
- Morgan W, Sowa M. Non-targeted effects of ionizing radiation: implications for risk assessment and the radiation dose response profile. *Health Phys*, 2009; 97(5), 426–432.
- Mothersill C, Seymour C. Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells. *Int J Radiat Biol*, 1997; 71: 421-427.
- Mothersill C, Seymour CB. Radiation-induced bystander effects and the DNA paradigm: an "out of field" perspective. *Mutat Res*, 2006; 597: 5-10.
- Munira Kahaim. Non-targeted effects of ionizing radiation implications of low dose risk. *Mutat Res*. 2013; 752(1): 84–98.
- M Najafi, Fardid R, Hadadi Gh, Fardid M. The mechanism of Radiation-Induced bystander effect. *J Biomed Phys Eng*, 2014; 4:4.
- Nagasawa H, Cremesti A, Kolesnick R, Fuks Z, Little JB. Involvement of membrane signalling in the bystander effect in irradiated cells. *Cancer Res* 2002; 62: 2531-2534.
- Nagasawa H, Little JB. Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha particles. *Cancer Res* 1992; 52: 6394-6396.
- Nias AHW. Intrinsic Radiosensitivity. En “An introduction to Radiobiology” AHW Nias ed. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, London. 1990, 110-130.

- Nomiya T. Discussions on target theory: past and present. *Journal of Radiation Research*. 2013; 54(6)1161-1163.
- Ohba k, Omagari k, Nakamura T, y col. Abscopal regression of hepatocellular carcinoma after radiotherapy for bone metastasis, *Gut* 43 (1998) 575–577.
- Pearson WB, Watkins CH, Pearse GL, Childs DS. Changes in sternal bone marrow following roentgen-ray therapy to the spleen in chronic granulocytic leukaemia. *Cancer* 1954; 7: 179-189.
- Prise KM, Belyakov OV, Malcolmson AM, Ozols A, Folkard M, Michael BD. Understanding bystander responses in cellular systems: studies using a charged-particle microbeam. *Radiat Res* 2000; 153: 233-238.
- Prise K, M. Folkard and B. D. Michael. A review of the bystander effect and its implications for low-dose exposure. *Radiation protection dosimetry*, 2003; 104:4, 347-355.
- Rödel F. Contribution of the immune system to bystander and non-targeted effects of ionizing radiation. *Cancer Letters*, 2015; 356, 105–113.
- Rothkamm K, Lobrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *PNAS* 2003; 100: 5057-5062.
- Saraví FD. Efectos de vecindad de la radiación ionizante y sus implicaciones en radioterapia y radioprotección. *Revista Médica Univeristaria, Facultad de ciencias Médicas, UNCuyo*. 2009; Volumen 5 (4): 2-7.
- Sawant SG, Renders-Pehrson G, Geard CR, Brenner DJ, Hall EJ. The bystander effect in radiation oncogenesis: I. Transformation in C3H 10T1/2 cells in vitro can be initiated in the unirradiatedneighbours of irradiated cells. *Radiat Res* 2001; 155: 397-401.
- Schauer DA y Linton OW. National Council on Radiation Protection and Measurements Report Shows Substantial Medical Exposure Increase. *Radiology*, 2009; 253, 293-296.
- Seymour C, Mothersill C. Relative contribution of bystander and targeted cell killing to the low-dose region of the radiation dose-response curve. *Radiat Res* 2000; 153: 508-511.
- Shao C, Furusawa Y, Aoki M, Ando K. Role of gap junctional intercellular communication in radiation-induced bystander effects in human fibroblasts. *Radiat Res* 2003; 160: 318-323.
- Shao C, Furusawa Y, Aoki M, Matsumoto H, Ando K. Nitric oxide-mediated bystander effect induced by heavy-ions in human salivary gland tumour cells. *Int J RadiatBiol* 2002; 78: 837-844.
- Shao C, Stewart V, Folkard M, Michael BD, Prise KM. Nitric oxide-mediated signalling in the bystander response of individually targeted glioma cells. *Cancer Res* 2003; 63: 8437-8442.
- Sokolov M, Neumann R. Radiation-Induced Bystander Effects in Cultured Human Steam Cells. *PLOS One*, 2010; Volumen 5, 1-15.

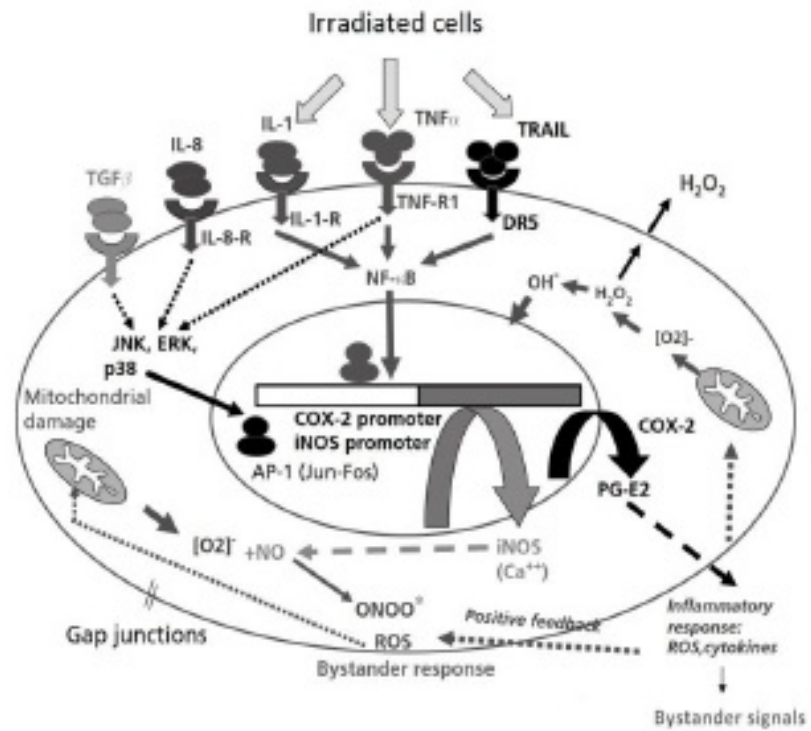
- Suzuki K. and Yamashita S. Radiation-induced Bystander response: Mechanism and clinical implications. *Advances in Wound Care*, 2013; Volume 3, Number 1.
- Souto J. Tumour development in the rat induced by the blood of irradiated animals. *Nature* 1962; 195: 1317-1318.
- Staudacher AH, Blyth BJ, Lawrence MD, Ormsby RJ, Bezak E, Sykes PJ. If bystander effects for apoptosis occur in spleen after low-dose irradiation in vivo then the magnitude of the effect falls within the range of normal homeostatic apoptosis. *Radiat Res* 2010; 174:727-31.
- Tomita M, Maeda M. Mechanism and biological importance of photon-induced bystander responses: do they have an impact on low-dose radiation responses. *J Radiat Res*, 2015; 56,205-219.
- Wang H, Yu K, Hou J, Liu Q and Han W. Radiation-induced bystander effect: early process and rapid assessment. *Cancer letters*, 2015; 356, 137-144.
- Ward JF. The radiation induced lesions which trigger the bystander effect. *Mutat Res* 2002; 499: 151-154.
- Wolfe S. The adaptive response in radiobiology. Evolving insights and implications *Environ. Health Perspect.* 1998; 106, 277-83.



## Anexos

Anexo 1

Efecto Bysatnaer – Alteraciones Radioinducidas



The mechanism of radiation-induced bystander effect with alteration the expression of involved genes in the inflammation pathway.

Imagen extraída de Najafi M et al

Anexo 2

Efecto bystander y efectos estocásticos – Representación grafica

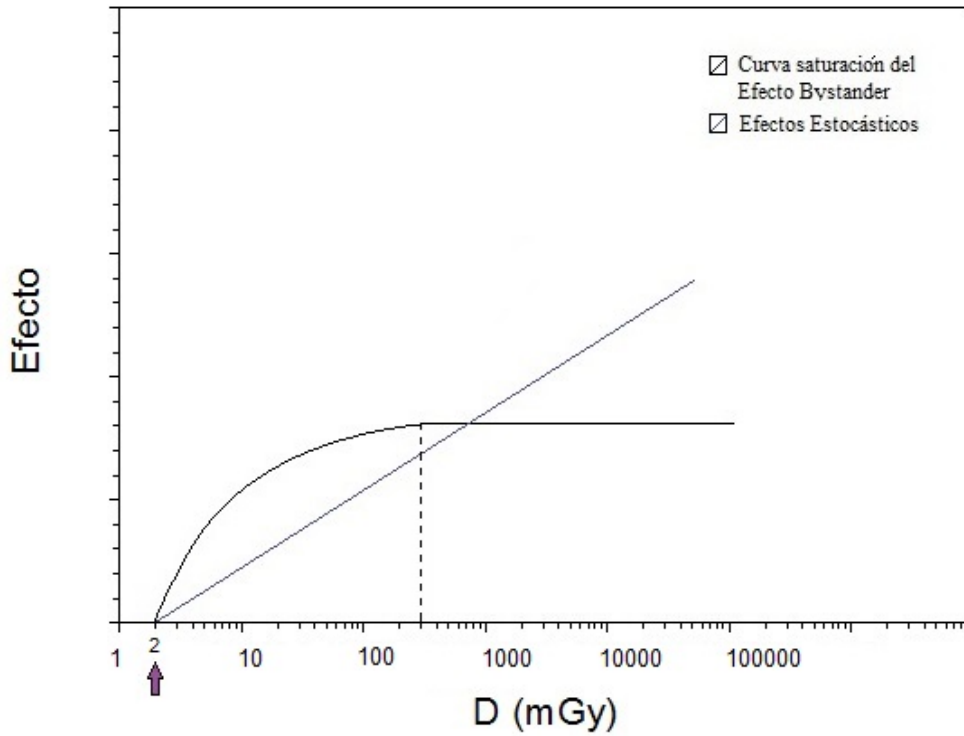


Figura 2: Representación semilogarítmica de la relación de efectos estocásticos (lineal) y de efectos inducidos por Bystander (con saturación). Nótese que se consideró un umbral para ambos tipos de respuesta. Adaptación de Prise y col, 2000.

Dra. Olga Lillo