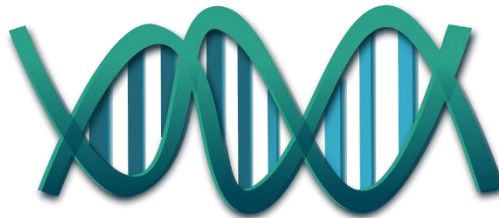




Evaluación del daño producido por radiaciones ionizantes de nivel diagnóstico utilizando un modelo celular eucariota.



Ciclo de Metodología Científica II – 2024

Grupo 108

INVESTIGADORES:

Martina Belén Aroztegui Zamora, Giovanni Bernardo Velázquez, Alicia Bettina Falero Rodríguez,
Fernando Javier Martusciello Carro, Rodrigo Pucurull Silva, Sofía Belén Sánchez Britos.

ORIENTADORES:

Prof. Agdo. Nelson Bracesco, Prof. Adj. Verónica Sosa, Asist. Búrix Mechoso, Asist. Daniela Olsson,
Lic. Lourdes Blanc, Asist. Lic. Fis. Med. Enrique Cuña, Prof. Adj. Lic. Natalia Dos Santos.

Institución:

Laboratorio de Radiobiología, Unidad Académica de Biofísica, Facultad de Medicina, UdelaR.

Mayo - Noviembre 2024

Índice de contenidos

Resumen	4
Abstract	5
Graphical abstract	6
Introducción	7
Fundamento teórico	8
Justificación	13
Hipótesis	13
Objetivo general y específico.....	14
Objetivo general.....	14
Objetivos específicos.....	14
Materiales y metodología.....	14
Resultados.....	17
Discusión.....	24
Conclusiones y perspectivas.....	26
Referencias bibliográficas	27
Agradecimientos.....	29

Índice de figuras

Tabla de abreviaturas	4
Figura 1	18
Figura 2	18
Figura 3	19
Figura 4	20
Figura 5	20
Figura 6	20
Figura 7	21
Figura 8	21
Figura 9	22
Figura 10.....	23

Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Descripción
ADN	Ácido desoxirribonucleico
FM	Frecuencia mutagénica
FMED	Facultad de medicina
IC	Intervalo de confianza
LED	Diodo emisor de luz
LET	Transferencia lineal de energía
REM	Radiaciones electromagnéticas
RI	Radiaciones ionizantes
RNS	Especies reactivas del nitrógeno
ROS	Especies reactivas del oxígeno
RUV	Radiaciones ultravioletas
Sx	Fracción de Sobrevida
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C

Resumen

La radiación se define como “la propagación de energía con dirección y sentido” y la misma se emite desde una fuente que puede ser de origen natural o artificial.

Según su longitud de onda la radiación ultravioleta (UV) se divide en: ultravioleta A (315-400 nm), ultravioleta B (280-315 nm), ultravioleta C (100-280nm).

Las radiaciones ionizantes se caracterizan por ser de alta energía y son capaces de remover a un electrón de su órbita, ejemplos de esto son los rayos X, gamma, beta, etc. En medicina son utilizadas para procedimientos diagnósticos y terapéuticos.

Las radiaciones ionizantes causan daño a nivel molecular de forma directa rompiendo la hebra de ADN e indirecta produciendo radicales libres capaces de producir mutaciones y cáncer cuando se evaden los mecanismos de control celular.

El conocimiento actual sobre el daño que generan las radiaciones ionizantes está principalmente extrapolado de estudios sobre poblaciones expuestas a altas dosis, aunque las dosis diagnósticas están muy por debajo de estos niveles.

Existen también dispositivos de uso estéticos que dependiendo de las lámparas utilizadas pueden llegar a producir cierto nivel de daño, como los son los seca uñas de luz ultravioleta los cuales en su mayoría utilizan lámparas de luz ultravioleta A.

El interés de este trabajo es aportar datos sobre los efectos de las radiaciones ionizantes a dosis diagnósticas de tomografía y radiología, y dispositivos que emiten radiaciones UV y que tienen uso cosmético. Para ello se utilizó como modelo eucariota la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* y se analizaron las probabilidades de sobrevida y frecuencia mutagénica para cada tipo de radiación utilizada.

Los resultados obtenidos muestran que: en relación a exposición UV hubo una

disminución en la sobrevida para ambos dispositivos y también aumentó la frecuencia mutagénica, mientras que para radiación ionizante en dosis utilizadas en estudios diagnósticos no se observa disminución de la sobrevida ni aumento significativo de la frecuencia mutagénica.

Estos resultados nos ponen frente a un cambio de paradigma con respecto a la percepción de riesgo durante la utilización de equipos cosméticos de amplia distribución entre la población y la realización de estudios diagnósticos que utilizan bajas dosis de radiación ionizante.

Abstract

Radiation is defined as "the propagation of energy with direction and purpose," and it is emitted from a source that can be either natural or artificial in origin.

Based on its wavelength, ultraviolet (UV) radiation is divided into ultraviolet A (315-400 nm), ultraviolet B (280-315 nm), and ultraviolet C (100-280 nm).

Ionizing radiations are characterized by their high energy and ability to remove an electron from its orbit. Examples include X-rays, gamma rays, beta particles, etc. In medicine, these radiations are used for diagnostic and therapeutic procedures.

Ionizing radiations cause molecular damage directly by breaking DNA strands and indirectly by producing free radicals capable of inducing mutations and cancer when cellular control mechanisms are evaded.

The current understanding of the damage caused by ionizing radiations is primarily extrapolated from studies on populations exposed to high doses, although diagnostic doses are significantly lower than these levels.

There are also cosmetic devices that, depending on the lamps used, may cause some degree of damage, such as UV nail dryers, which mostly use ultraviolet A light lamps.

The aim of this study is to provide data on the effects of ionizing radiations at diagnostic doses used in tomography and radiology, as well as on devices

emitting UV radiation with cosmetic applications. To this end, the eukaryotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* was used as a model organism, and survival rates and mutagenic frequencies were analyzed for each type of radiation utilized.

The results obtained show that for UV exposure, there was a decrease in survival for both devices and an increase in mutagenic frequency. In contrast, for ionizing radiation at doses used in diagnostic studies, no decrease in survival or significant increase in mutagenic frequency was observed.

These findings challenge the current paradigm regarding risk perception when using widely distributed cosmetic devices and conducting diagnostic studies that employ low doses of ionizing radiation.

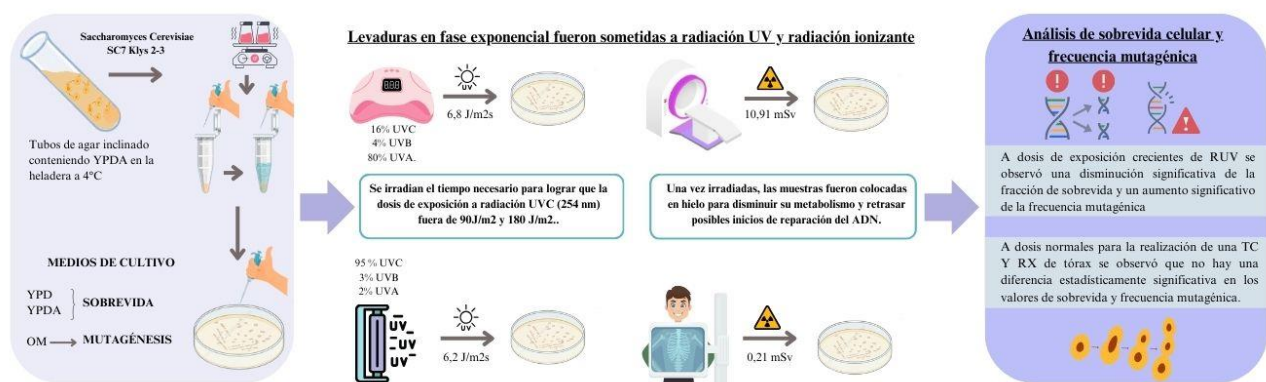
Palabras clave: radiación ultravioleta; radiación ionizante, *Saccharomyces cerevisiae*, daño y reparación del ADN, respuesta adaptativa.

Graphical abstract

Evaluación del daño producido por radiaciones ionizantes de nivel diagnóstico utilizando un modelo celular eucariota.



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Introducción

Desde sus comienzos, los sistemas biológicos han estado expuestos a radiaciones provenientes de fuentes naturales (ej. radiaciones ionizantes y ultravioleta) y más recientemente con el advenimiento de la industrialización también a fuentes artificiales (Nunes, Gelós 2006 por revisión).

A lo largo de la historia de la humanidad las radiaciones han tenido múltiples usos (bélicas, industriales, médicas). Se destaca a las electromagnéticas (REM) por su uso frecuente en medicina con fines diagnósticos y terapéuticos (ej. rayos X, gamma y UV). La radiación UV además de utilizarse con fines terapéuticos también se resalta por su aplicación con fines cosméticos (camas solares) (EHC 160, 1994).

En relación a las radiaciones provenientes de fuentes artificiales las 3/4 partes de la dosis es aportada por el radiodiagnóstico ya que la radioterapia aporta una dosis menor debido a que se aplica a un menor número de personas. A la exposición por radiodiagnóstico y por radioterapia se le suma la debida a accidentes nucleares, mala utilización de la energía nuclear (desechos radioactivos), así como acciones bélicas.

Es sabido que entre los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes (RI) y ultravioletas (UV) se evidencian, la muerte celular, la mutagénesis, y la carcinogénesis; todos ellos efectos que se manifiestan en función de la dosis absorbida o de la fluencia (Friedberg et al , 2005 por revisión).

La generación de los efectos biológicos de las RI puede deberse a la absorción directa en moléculas blanco tales como el ADN, o indirecta por ionizaciones secundarias y generación de radicales libres. En este efecto indirecto es de gran importancia la interacción de la radiación con la molécula de agua y la producción del radical OH, peróxidos y radical superóxido. Las probabilidades de interacción de la radiación con el medio material y la eficacia biológica para producir efectos dependen en gran parte de la magnitud Transferencia Lineal de Energía (LET por sus siglas en inglés) y de la tensión de oxígeno (Kiefer, 1990; Friedberg et al., 2005 por revisión).

Como consecuencia del aumento de la exposición a radiaciones se observa un incremento de la probabilidad de mutaciones y posterior aumento en la

carcinogénesis (efectos estocásticos). Por otro lado, no hay suficiente evidencia científica sobre lo que ocurre a dosis por debajo de 0,1 Sv con la frecuencia carcinogénica (Lillo O, 2012 por revisión).

Existen pautas claras para el manejo de las REM y la radioprotección, establecidas por la Organización Mundial de la Salud a través de la Comisión Internacional de Protección Radiológica y la Comisión Internacional de Protección contra Radiaciones No Ionizantes (ICRP e ICNIRP por sus siglas en inglés). (Lillo et al., 2012).

La radioprotección es un área interdisciplinaria cuya finalidad es la protección de los sistemas biológicos, medioambientales y ecosistemas frente a los efectos nocivos de las radiaciones. Se basa en tres pilares que son la Justificación, Optimización y Limitación de la dosis individual. *Vinculado con la optimización nos basamos en el principio ALARA, acrónimo que significa "tan bajo como razonablemente sea posible".* (Podgorsak et al., 2005).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la exposición a radiación ionizante de nivel diagnóstico, y no ionizante usando como modelo eucariota *Saccharomyces cerevisiae*.

Fundamento teórico

Aplicaciones médicas de las radiaciones

La primera causa de irradiación de la población es a consecuencia de radiaciones naturales, mientras que en relación a la radiación proveniente de fuentes artificiales, la mayoría de la dosis es aportada por el radiodiagnóstico (EHC 160, 1994).

Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes

Se entiende por radiación ionizante aquella que al interactuar con la materia es capaz de provocar la salida de electrones de los átomos, generando iones. (Lillo O, 2012 por revisión).

Los efectos biológicos de las RI pueden deberse a absorción directa en moléculas blanco tales como el ADN, o indirecta, por ionizaciones secundarias y generación de radicales libres, siendo de gran importancia su interacción con el agua y la producción del radical OH, peróxidos y radical superóxido. Las

probabilidades de interacción y la eficacia biológica dependen en gran parte de la magnitud LET (Transferencia Lineal de Energía) y de la tensión de oxígeno (Kiefer, 1990; Friedberg et al., 2005 por revisión).

Está demostrado que los radicales libres y especies derivadas (ROS) son capaces de provocar varios tipos de lesiones a nivel del ADN tales como: rupturas de cadena simple y doble, pérdidas de bases, cambios de bases con formación de radicales y entrecruzamientos. Estas lesiones son potencialmente letales, mutagénicas y recombinogénicas. (Friedberg et al., 1995; Ronen y Glickman, 2001).

Los efectos de las RI se clasifican en estocásticos y determinísticos, de los cuales los primeros aumentan la probabilidad de ocurrencia de daño con la dosis y su gravedad es independiente de la misma, mientras que los segundos tienen un umbral de dosis sobre el cual el efecto se presenta, y la gravedad está en relación con la dosis recibida (Lillo O, 2012 por revisión).

Uno de los efectos estocásticos más relevantes de la radiación es la carcinogénesis, un proceso que se divide en tres fases: iniciación, promoción y progresión. La radiación actúa principalmente como un iniciador de mutaciones, y la probabilidad de desarrollar cáncer está directamente relacionada con la dosis de radiación recibida. (González, 1994).

Dentro de los efectos determinísticos, que se relacionan con la muerte celular son ejemplos las cataratas, aplasia medular radioinducida, alteraciones del tubo digestivo, alteraciones cognitivo-neurológicas, caída del cabello etc. (Lillo O, 2012 por revisión).

Efectos biológicos de la radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta induce efectos biológicos sobre aquellos compuestos que absorben directamente los fotones siendo los ácidos nucleicos y proteínas los principales cromóforos que absorben principalmente la radiación UV. (González Pumariega M, 2009).

Las principales lesiones directas producidas por la radiación UVC son dímeros formados en pirimidinas adyacentes: el dímero de pirimidina cis-syn ciclobutano (CPD) y el fotoproducto pirimidina (6-4) pirimidona (6-4PP). (González Pumariega M, 2009).

Por otro lado los daños indirectos se generan a través de reacciones dependientes de la presencia de oxígeno molecular provocando daños de tipo oxidativo en las nucleobases, debido a la formación de ROS. (Piñero Piquer E., 2022) La principal lesión generada por ROS consiste en modificaciones de bases, de las cuales la 7,8-dihidro-8-oxoguanina (8-oxodG) es la más abundante con alta probabilidad de generar mutagénesis. (Callén Moréu E., 2004).

La exposición de la piel a la radiación ultravioleta, ya sea de origen natural (como la luz solar) o artificial (como las lámparas), puede tener efectos nocivos. Esta exposición constituye un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de piel el cual representa el tipo más frecuente de neoplasias humanas. (MoralesI & López-Nevot, 2006).

Dentro de la exposición artificial a la radiación UV encontramos aquella proveniente del uso de las lámparas para uso cosmético como pueden ser las de bronceado o las usadas para las uñas.

Aunque limitada, la investigación sobre el uso de lámparas UV para uñas sugiere que el riesgo de carcinogénesis por este tipo de lámparas es bajo aunque existe cierta controversia volviéndolo un tema potencial para la educación tanto del profesional como del paciente. (Ratycza. MC, 2019).

Las lámparas ultravioleta para uñas son necesarias para "curar", o secar y endurecer, el esmalte de uñas acrílico o en gel. Existen dos tipos de lámparas UV para uñas. La forma original utiliza tubos fluorescentes como bombillas y la forma más nueva utiliza bombillas de diodos emisores de luz (LED). Ambas bombillas emiten longitudes de onda UVA que pueden curar las uñas postizas, pero las lámparas estilo LED requieren menos tiempo ya que emiten longitudes de onda de mayor intensidad. La cantidad de tiempo que los clientes pasan bajo la luz ultravioleta varía según la cantidad, el tipo y la intensidad de las bombillas de la lámpara. (Ratycza. MC, 2019).

Sistemas de reparación genómica

Frente a la detección de daño a nivel del ADN se desencadena una red de señalización denominada respuesta celular al daño (DDR) con el fin de repararlo. La probabilidad de reparación se encuentra condicionada por factores genéticos, metabólicos y ambientales determinando que la

información genética se pueda establecer con o sin errores. (Chatterjee N. & Walker G.C., 2017).

El daño no reparado o reparado con probabilidad de error puede llevar a la aparición de mutaciones puntuales en genes específicos. La acumulación de mutaciones en el ADN puede dar lugar a la transformación celular (Nunes, Gelós 2006 por revisión).

Dependiendo del tipo de daño que se genere y de la etapa del ciclo celular en la que se encuentra la célula, existen diversas vías de reparación del daño, entre ellas destacamos: reparación por escisión de bases (BER), reparación por escisión de nucleótidos (NER), recombinación homóloga (HR), unión de extremos no homólogos (NHEJ) entre otras. A continuación se describirán brevemente los mecanismos que se activarán con mayor probabilidad frente a los daños más característicos de la RUV y la RI (Sancar A. et al., 2004).

Reparación de rotura de doble hebra (DSB)

Frente a las lesiones DSB existen dos vías principales que se activan para procesar el daño: la unión de extremos no homólogos (NHEJ) y la reparación por recombinación homóloga (HR) (Chatterjee N. & Walker G.C., 2017).

La reparación por NHEJ consiste en la religación directa de los extremos de la DSB y en *Saccharomyces cerevisiae* el mecanismo se inicia con la unión del complejo proteico Yku70/Yku80 a los extremos de la lesión para protegerlos de la degradación. Luego el complejo proteico MRX interviene para que los fragmentos no se separen el uno del otro y finalmente, la ligasa Dnl4 actúa sellando la DSB (Mahmoud Toulany, 2019).

En la HR se utiliza una secuencia homóloga para reparar el daño DSB, iniciando el proceso con la degradación exonucleolítica de los extremos 5' para originar regiones de ADNss (ss: de cadena simple) con extremos 3'OH libres. (Lee et al., 1999; Zhu et al., 2008). La proteína Rad52 promueve la invasión de los fragmentos de ADNss con extremos 3'OH sobre la región homóloga de ADN y luego la proteína Rad51 con la ayuda de Rad55, Rad57 y Rad54 cataliza el intercambio de cadenas entre las dos moléculas implicadas lo que permite cebar la síntesis de ADN usando como molde la secuencia homóloga. De esta manera es una vía de reparación eficiente con baja probabilidad de errores en comparación con la NHEJ. (Prado et al., 2003).

Reparación por escisión de bases (BER)

La vía BER es un sistema ubicuo que se activa principalmente frente al daño oxidativo y se caracteriza por reconocer y escindir una base dañada. (Callén Moréu E., 2004).

Este mecanismo se compone de distintas fases, en un principio las bases dañadas son eliminadas por múltiples enzimas N-glicosilasas generando un sitio apurínico o apirimidinico (AP) que posteriormente puede ser reconocido por enzimas que son específicas para los sitios AP. (Friedberg et al., 1995).

Reparación por escisión de nucleótidos NER

La vía NER se encarga de procesar lesiones que distorsionan en la estructura tridimensional del ADN interfiriendo con el emparejamiento de las bases pudiendo afectar la replicación o la transcripción (Hong et al. 2017).

Es un mecanismo capaz de reparar las lesiones producidas por la exposición a la luz UV como el dímero de pirimidina ciclobutano (CPD) y el fotoproducto pirimidina (6-4) pirimidona [(6-4) PP]) así como distorsiones que introducen grandes compuestos aromáticos policíclicos o agentes quimioterápicos que unen las dos cadenas de ADN entre sí. (Hong et al. 2017).

Esta vía de reparación se puede clasificar en dos sub vías: la vía de reparación global (GG-NER) y la vía de reparación acoplada a la transcripción (TC-NER). (Boiteux and Jinks-Robertson, 2013).

Modelo eucariota de levaduras

Saccharomyces cerevisiae ha sido un organismo modelo de investigación para estudiar las vías de reparación en el ADN desde hace más de 50 años (Fisher, 2007). Esto se debe a que las levaduras ofrecen muchas ventajas como modelo de investigación ya que tienen genomas relativamente pequeños en comparación con otros eucariotas, además de una importante biblioteca de mutantes con el mismo fondo genético que la cepa madre, son de fácil mantenimiento, simples de cultivar y tienen un tiempo de generación celular de 1,5 h en condiciones óptimas. (Fisher H., 2007; Watson J.D., 2006; Walker G.M., 1998).

Sumado a las ventajas mencionadas se resalta el alto grado de homología entre los genes humanos y de levaduras haciendo que el uso de *Saccharomyces*

cerevisiae como modelo biológico de investigación esté plenamente justificada. (Spencer et al., 1983; Foury, 1997).

Justificación

Este trabajo pretende demostrar que el efecto de radiaciones ionizantes a dosis diagnósticas y de radiación no ionizante (UVC) es capaz de modificar las probabilidades de sobrevida y mutagénesis In Vitro, utilizando como modelo celular eucariota a *Saccharomyces cerevisiae*.

Estos datos aportarán a la comprensión del efecto de radiaciones de baja dosis sobre el ADN en organismos eucariotas y eventualmente extrapolar estos resultados como insumo para futuras modificaciones de las directrices de seguridad radiológica y establecer límites de exposición más seguros.

Se destaca la relevancia de la profundización en el estudio de las radiaciones a dosis utilizadas en radiodiagnóstico para evidenciar posibles daños y como herramienta para futuras estrategias de radioprotección a nivel celular.

En las bases de datos consultadas no hemos encontrado artículos ni comunicaciones sobre alteraciones de la frecuencia de sobrevida y/o frecuencia mutagénica utilizando el modelo de levadura expuestas a dosis de RI de bajas dosis utilizadas en radiodiagnóstico.

Hipótesis

La hipótesis de trabajo supone aumento diferencial de lesiones inducidas por radiaciones X y UV, evidenciándose a nivel celular disminución de la probabilidad de sobrevida y aumento de la frecuencia mutagénica.

Objetivo general y específico

Objetivo general

Evaluar el efecto a nivel celular de la exposición a radiación ionizante de nivel diagnóstico y no ionizante usando como modelo eucariota *Saccharomyces cerevisiae*.

Objetivos específicos

1. Determinar las curvas de sobrevivencia y frecuencia mutagénica en función de dosis de exposición crecientes de radiación UV con diferentes fuentes.
2. Determinar la probabilidad de sobrevivencia y frecuencia mutagénica con dosis de nivel diagnóstico de radiación ionizante.
3. Comparar la probabilidad de sobrevivencia y la frecuencia mutagénica de las muestras celulares expuestas a rayos X con las muestras expuestas a radiación UV.

Materiales y metodología

Población Celular:

Se utilizó como modelo eucariota una cepa haploide de *Saccharomyces Cerevisiae* SC7 Klys 2-3 (*auxotróficas para lisina*) (Nunes et al., 1984).

Mantenimiento de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae*

Las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* se mantienen en tubos de agar inclinado conteniendo YPDA en la heladera a 4°C (Rose M. et al., 1990).

Medios de cultivo:

Se utilizaron medios de cultivos nutrientes para el estudio de la sobrevivencia (YPD, YPDA) y selectivos para mutagénesis (OM) reversión a heterotrofia habituales para *Saccharomyces cerevisiae* (Rose M et al., 1990; Keszenman et al., 2000).

- YPD: Medio nutriente líquido: 1% de extracto de levadura (Difco, US Biological), 2% Peptona (Difco, US Biological) y 2% glucosa (Sigma).
- YPDA: Medio nutriente sólido: YPD + 2% agar (Difco, US Biological).

- OM: Medio de omisión: 0.67% base nitrogenada de levadura (Difco), 2% glucosa (Sigma) y 2% agar (Difco, US Biological).

Radiación Ionizante:

Fuentes: equipos utilizados en la Unidad de Imagenología del Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela.

Para la exposición de dosis de tomografía de tórax se utilizó un equipo General Electric® modelo Optima 520 de 16 hileras de detectores. (Dosis: 10,91 mSv).

Para la exposición de dosis de Radiografía de tórax se utilizó un equipo DINAN AF-500. (Dosis: 0,21 mSv).

Las dosis elegidas se corresponden con las utilizadas en los protocolos habituales para diagnóstico.

Radiación UV:

- Lámpara UVC: PHILLIPS GL-8 de 8 W que emite con un 95 % de UVC, 3% UVB y 2% UVA. La irradiancia medida para la longitud de onda de UVC (254nm) fue de 0,62 mW/cm² lo que equivale a una dosis de exposición de 6,2 J/m²s. Se irradiaron las muestras el tiempo necesario para lograr una dosis de exposición neta de 90J/m² y 180 J/m² de radiación UVC.
- Lámpara manicura; SUN M&J 04 248 W UV LED Nail Lamp que emite con un 16% de UVC, 4% de UVB y 80% de UVA. La irradiancia medida para la longitud de onda de UVC (254nm) fue de 0,68 mW/cm² lo que equivale a una dosis de exposición de 6,8 J/m²s. Se irradiaron las muestras el tiempo necesario para lograr una dosis de exposición neta de 90J/m² y 180 J/m² de radiación UVC. La elección de estas dosis están en sintonía con curvas dosis respuesta del Laboratorio de Radiobiología de trabajos anteriores (Nunes, Lorigo y Gelos, 1975).

Dosimetría RI:

Se utilizó un dosímetro digital DMC 3000 (MIRION TECHNOLOGIES).

Dosimetría UV:

Radiómetro digital modelo UVX de UVP Inc.

Procedimiento:

Se tomó una muestra de la cepa a utilizar (almacenada a 4°C) y se realizó un primer pasaje (1p) a medio de cultivo YPD en condiciones de esterilidad y se incubó 72 horas a 30°C en un agitador orbital hasta alcanzar la fase estacionaria temprana. A partir de éste primer pasaje se realizó un segundo pasaje (2p) incubando durante la noche a 30°C obteniéndose un cultivo en fase exponencial de crecimiento (2×10^7 cel/mL).

El conteo del número de células/mL (N) se realizó en el microscopio utilizando una cámara de Neubauer. Se realizaron dos conteos independientes por muestra y el error fue estimado en $N \pm 10\%$.

Muestras celulares de los cultivos en fase exponencial fueron expuestas a dosis de exposición crecientes de RUV utilizando dos fuentes diferentes: en un caso se utilizó una lámpara UVC y en otra una lámpara de manicura. En ambos casos se irradió el tiempo necesario para lograr que la dosis de exposición a radiación UVC (254 nm) fuera de 90 J/m² y 180 J/m².

De la misma manera se tomaron alícuotas del cultivo en fase exponencial de crecimiento y fueron sometidas a radiación ionizante de equipos ubicados en la UA de Imagenología del Hospital de Clínicas. La dosis utilizada en el protocolo de tomografía de tórax fue de 10.91 mSv y para el protocolo de radiografía de tórax fue de 0.21 mSv.

Una vez irradiadas, las muestras fueron colocadas en hielo para disminuir su metabolismo y retrasar posibles inicios de reparación del ADN.

Luego de la exposición de las muestras en las diferentes condiciones de irradiación (UVC o RI) se procedió a realizar el análisis de sobrevida celular y frecuencia mutagénica.

Análisis de fracción de sobrevida (Sx) y frecuencia mutagénesis (FM)

Para determinar la fracción de sobrevida, las muestras celulares expuestas a la radiación fueron diluidas de forma seriada de manera de obtener 200-400 células viables las cuales fueron sembradas en medio YPDA en placa de Petri (el ensayo se hizo por triplicado para cada una de las muestras) y luego de incubarlas a 30°C por 3 días se calculó la $S(x)$ para cada dosis de radiación como:

$$S(x) = N_s/N_0$$

Donde N_s : número de células capaces de generar clones/mL; N_o : número total de células tratadas/mL; x : dosis de radiación. (Haynes RH., 1988)

Para determinar la Frecuencia Mutagénica (FM) las muestras tratadas se sembraron por triplicado en placa de Petri conteniendo medio de selección y luego de incubarlas a 30°C durante 21 días se realizó el conteo de las clones correspondientes a las revertantes a la prototrofia $lys \rightarrow LYS$ (Keszenman et al., 2000).

Se calculó $FM(x)$ para cada dosis como:

$$FM(x) = Nm / Ns$$

Donde Nm es el número de mutantes/mL para las dosis. Ns es el número de sobrevivientes/mL y para cada dosis. Se calculó además la frecuencia espontánea de mutación a partir del control no tratado. (Eckardt F y Haynes RH, 1977).

Análisis Estadístico:

La distribución binomial se aplicó al cálculo de los intervalos de confianza para un nivel de significancia del 5% en caso de los eventos binomiales: muerte – sobrevivida y mutación – no mutación. Se utilizó el test ANOVA de una vía para la comparación de medias independientes en el estudio de fracción de sobrevivida y frecuencia mutagénica. En los casos donde no se cumplían las condiciones para poder aplicar el test de ANOVA se aplicó el test no paramétrico Kruskal-Wallis.

Resultados

Curva de sobrevivida celular y frecuencia mutagénica a dosis de exposición creciente de RUV con lámpara UVC.

En las muestras expuestas a dosis de exposición crecientes de RUV (lámpara UVC: 0-180 J/m²) se observó una disminución significativa de la fracción de sobrevivida con un cambio de pendiente en la curva para dosis mayores a 90 J/m². ($p < 0,05$) (Tabla I, Figura 1).

Tabla I: Fracción se sobrevivida ($S(x)$) y su intervalo de confianza (IC) al 95% en función de dosis de exposición creciente de RUV (lámpara UVC).

Dosis (J/m^2)	$S(x)$	IC _{95%}
0	1,000	$\pm 0,0006$
90	0,215	$\pm 0,0250$
180	0,013	$\pm 0,0070$

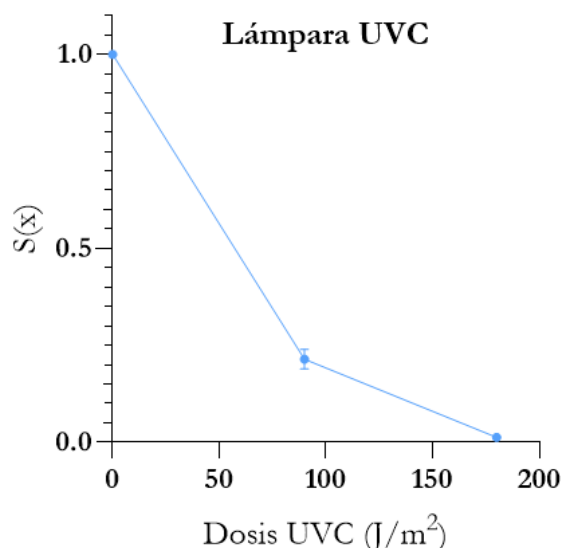


Figura 1: Fracción de sobrevivida ($S(x)$) en función de dosis de exposición crecientes de RUV (lámpara UVC) en muestras de cultivos de SC7 klys.

Con respecto a la frecuencia mutagénica se estudió la mutagénesis inducida por la RUV a través del estudio de la reversión del marcador de auxotrofia a heterotrofia lys a LYS en la cepa de estudio. Al analizar los resultados se observó un aumento significativo de la frecuencia mutagénica en función de las dosis de exposición creciente de RUV (lámpara UVC: 0-180 J/m^2) (Tabla II, Figura 2).

Tabla II: Frecuencia mutagénica y su intervalo de confianza (IC) al 95% en función de dosis de exposición creciente de RUV (lámpara UVC).

Dosis (J/m^2)	FM	IC _{95%}
0	$1,74\text{e-}5$	$\pm 2,00\text{e-}6$
90	$2,46\text{e-}4$	$\pm 7,00\text{e-}6$
180	$4,00\text{e-}3$	$\pm 2,80\text{e-}5$

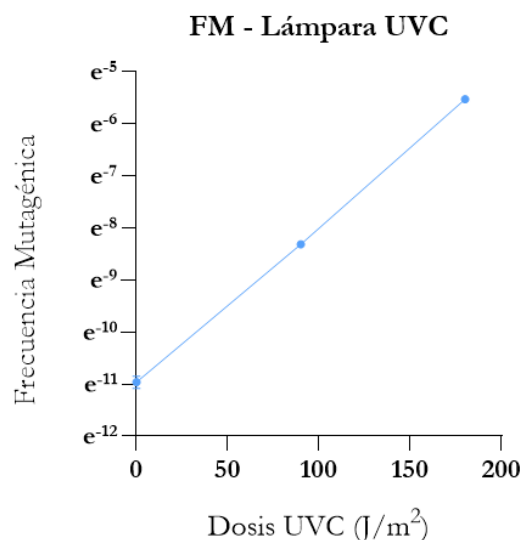


Figura 2: Representación en escala semilogarítmica de Frecuencia mutagénica en función de dosis de exposición crecientes de RUV (lámpara UVC: 0-180 J/m^2) en muestras de cultivo de SC7 klys. ($p < 0,05$).

Curva de sobrevida celular y frecuencia mutagénica a dosis de exposición creciente de RUV con lámpara de manicura.

Frente a la irradiación a dosis de exposición creciente con RUV (lámpara de manicura: 0-180 J/m²) se observó una disminución significativa de la fracción de sobrevida en comparación con el control (0 J/m²) ($p < 0,05$). Por otro lado al comparar la fracción de sobrevida para la dosis de 90 J/m² con la observada para la dosis 180 J/m² no se encontró diferencia significativa ($p < 0,49$). En este análisis también se observó un cambio de pendiente en la curva para dosis mayores a 90 J/m² (Tabla III, Figura 3).

Tabla III: Fracción se sobrevida ($S(x)$) y su intervalo de confianza (IC) al 95% en función de dosis de exposición creciente de RUV (lámpara manicura).

Dosis (J/m ²)	$S(x)$	IC _{95%}
0	1,00	$\pm 0,0006$
90	0,32	$\pm 0,0290$
180	0,28	$\pm 0,0280$

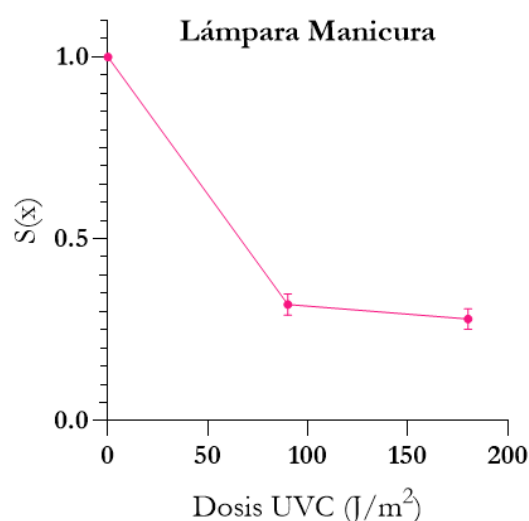


Figura 3: Fracción de sobrevida ($S(x)$) en función de dosis de exposición crecientes de RUV (lámpara manicura) en muestras de cultivos de SC7 klys.

Al analizar la frecuencia mutagénica a dosis crecientes de RUV (lámpara manicura: 0 -180 J/m²) se observó un aumento significativo de la misma en comparación con el control (0 J/m²). ($p < 0,05$). Asimismo, al comparar los valores de frecuencia mutagénica para la dosis de 90 J/m² con la de 180 J/m² no se observa una diferencia estadísticamente significativa. ($p < 0,28$). En este análisis también se observa un cambio de pendiente de la curva para valores mayores a 90 J/m² (Tabla IV, Figura 4).

Tabla IV: Frecuencia mutagénica y su intervalo de confianza (IC) al 95% en función de dosis de exposición creciente de RUV (lámpara manicura).

Dosis (J/m ²)	FM	IC _{95%}
0	1,74e-5	± 2,00e-6
90	8,71e-5	± 4,12e-6
180	9,32e-5	± 4,45e-6

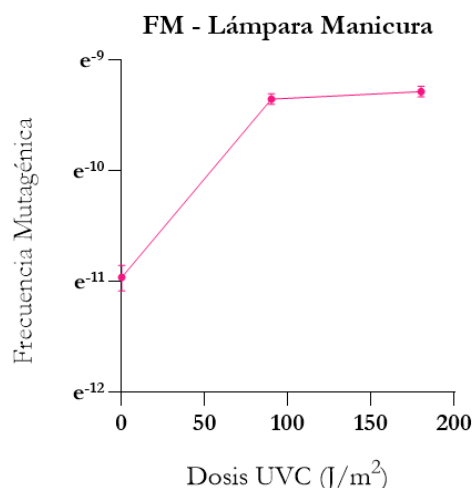


Figura 4: Representación en escala semilogarítmica de Frecuencia mutagénica en función de dosis de exposición crecientes de RUV (lámpara manicura: 0-180 J/m²) en muestras de cultivo de SC7 klvs. ($p < 0,05$).

Comparación de fracción de sobrevivida y de frecuencia mutagénica en cada dosis de exposición para las muestras expuestas a la lámpara UVC y la lámpara manicura.

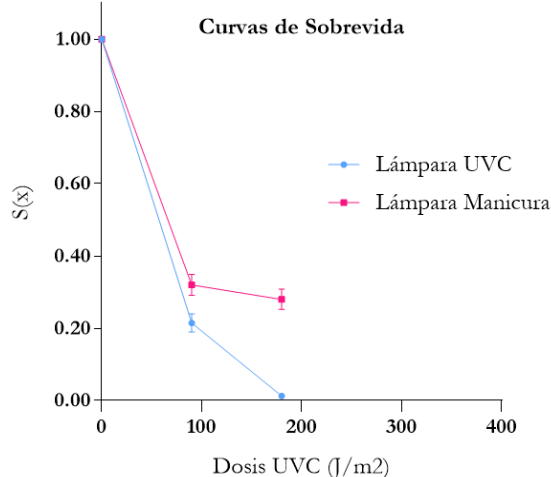


Figura 5: Representación agrupada de ambas curvas de fracción de sobrevivida a dosis de exposición crecientes de RUV (Lámpara UVC y Lámpara Manicura).

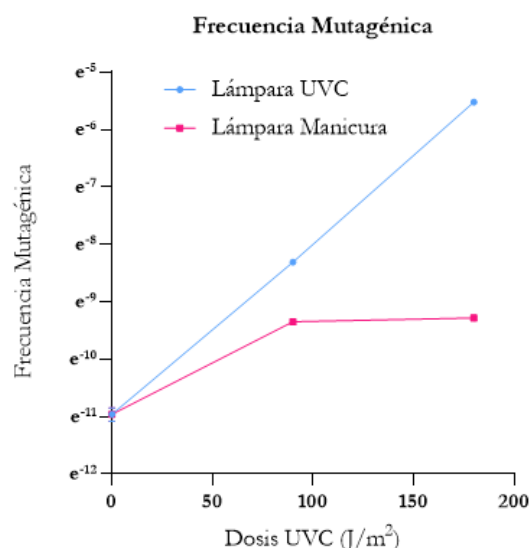


Figura 6: Representación agrupada de ambas curvas de fracción de sobrevivida a dosis de exposición crecientes de RUV (Lámpara UVC y Lámpara Manicura).

Al comparar las frecuencias de supervivencia observadas al irradiar a la misma dosis de UVC con los dos tipos de lámpara se observó que la letalidad es mayor en un factor de 21 para aquellas muestras irradiadas con la lámpara UVC para la dosis de 180 J/m² ($p=0,001$). Para la dosis de 90 J/m² no se observó una diferencia estadísticamente significativa de la supervivencia observada con los dos tipos de lámparas ($p=0,12$) (Figura 7).

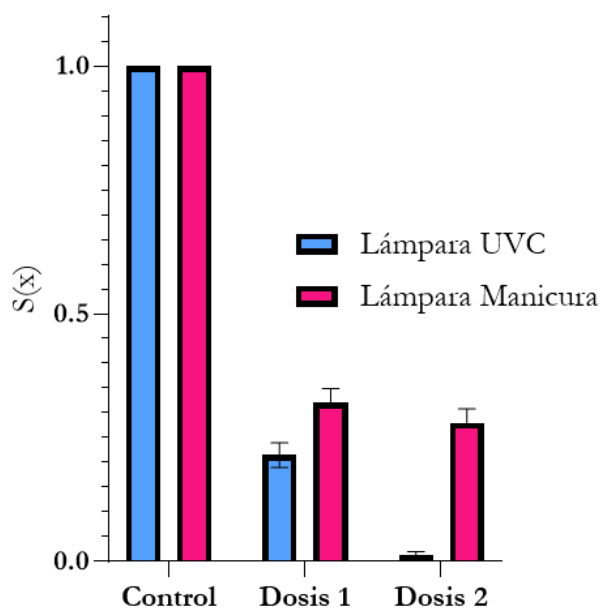


Figura 7: Diagramas de barras que muestran la fracción de supervivencia ($S(x)$) de las muestras de Sc7 klys expuestas a las mismas dosis de RUV utilizando la lámpara UVC (celeste) y utilizando la lámpara manicura (rosado). ($p<0.05$).

Al realizar el análisis comparativo de la frecuencia mutagénica para cada dosis de irradiación utilizando las dos lámparas se observó que a la dosis de 90 J/m² no hay diferencia estadísticamente significativa para los valores observados por la irradiación de la lámpara UVC y de la lámpara manicura ($p\geq 0.05$). Asimismo para la dosis de 180 J/m² se observó una frecuencia mutagénica mayor en un factor de 45 para aquellas muestras irradiadas con la lámpara UVC ($p=0,004$). (Figura 8).

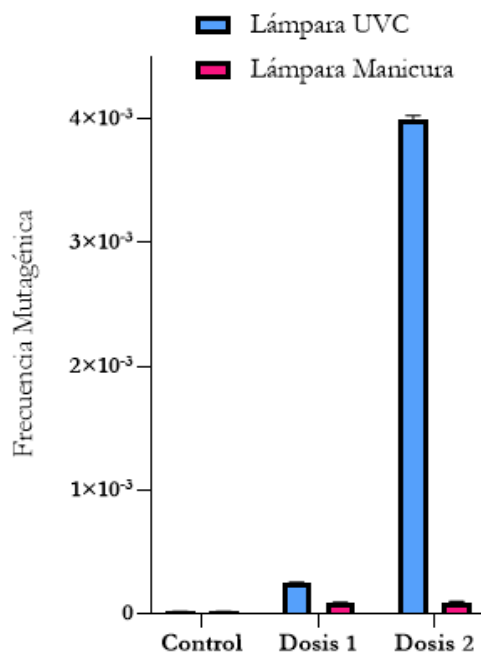


Figura 8: Diagramas de barras que muestran la frecuencia mutagénica de las muestras de Sc7 klys expuestas a las mismas dosis de RUV utilizando la lámpara UVC (celeste) y utilizando la lámpara manicura (rosado). ($p<0.05$).

Fracción de sobrevivencia y frecuencia mutagénica para muestras irradiadas con radiación ionizante

Muestras celulares se irradiaron con la dosis normal para la realización de una tomografía de tórax (TC tx Dosis: 10,91 mSv) y con la dosis normal para un estudio radiográfico de tórax de frente y perfil (RX tx Dosis: 0,21 mSv). Se analizó la fracción de sobrevivencia y la frecuencia mutagénica para ambos tipos de exposición observándose que no hay una diferencia estadísticamente significativa en los valores de fracción de sobrevivencia obtenidos en relación con la muestra control (dosis=0) ($p=0,13$). (Tabla V, Figura 9).

Tabla V: Fracción de sobrevivencia ($S(x)$) y su intervalo de confianza (IC) al 95% para dosis de nivel diagnóstico para tomografía de tórax y radiografía de tórax de frente y perfil.

Tratamiento	$S(x)$	IC _{95%}
Control	1	$\pm 0,0006$
TC tx	0,84	$\pm 0,0220$
RX tx	0,99	$\pm 0,0006$

Sobrevivencia Radiación Ionizante

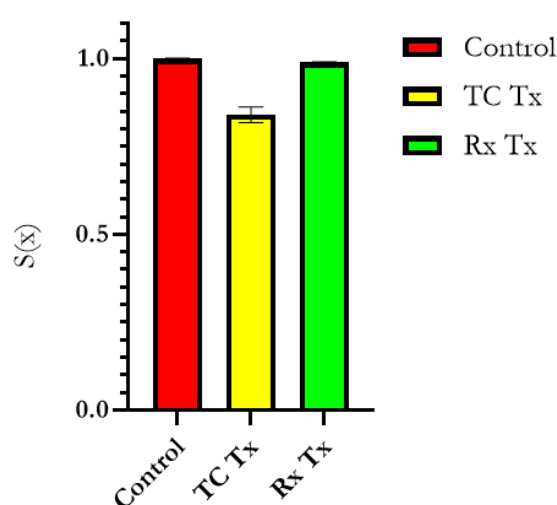


Figura 9: Diagramas de barras que muestran la fracción de sobrevivencia ($S(x)$) de las muestras de *Sc7 klys* expuestas a dosis de nivel diagnóstico para tomografía de tórax y radiografía de tórax de frente y perfil. ($p>0,05$).

En el caso de la frecuencia mutagénica los valores obtenidos muestran que no existe diferencia entre el control y la muestra expuesta a la tomografía y por otro lado se observa una disminución de la frecuencia mutagénica para las muestras expuestas al tubo de rayos X. Estos resultados no tienen significancia estadística dado que por errores prácticos en el manejo de las muestras no se obtuvieron datos suficientes como para poder realizar una comparación con validez estadística. Los datos obtenidos muestran una tendencia que debería de ser analizada a futuro con la realización de repeticiones experimentales. (Tabla VI, Figura 10).

Tabla VI: Frecuencia mutagénica y su intervalo de confianza (IC) al 95% para dosis de nivel diagnóstico para tomografía de tórax y radiografía de tórax de frente y perfil.

Tratamiento	FM	IC _{95%}
Control	1,74e-5	1,98e-6
TC tx	1,63e-5	2,34e-6
RX tx	1,04e-5	1,87e-6

Frecuencia Mutagénica Radiación Ionizante

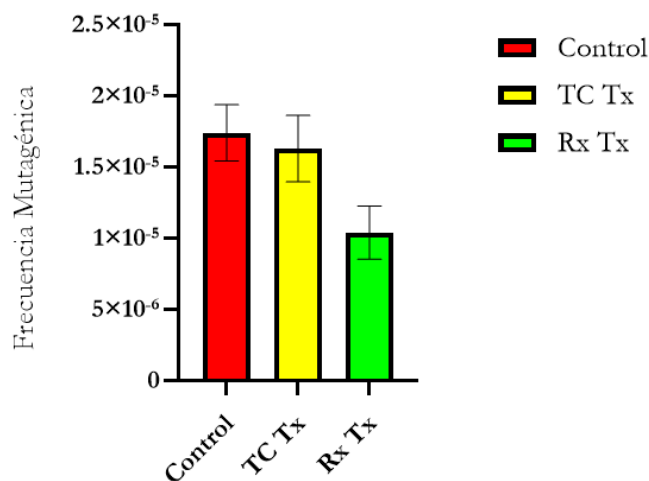


Figura 10: Diagramas de barras que muestran la Frecuencia mutagénica de las muestras de *Sc7 klys* expuestas dosis de nivel diagnóstico para tomografía de tórax y radiografía de tórax de frente y perfil.

Comparación de la fracción de supervivencia y la frecuencia mutagénica de las muestras celulares expuestas a rayos X con las muestras expuestas a radiación UV.

Si se comparan los niveles de energía entre la irradiación con UV y la radiación ionizante se observa:

- 1- que la cantidad de energía (Joules) entregados en la irradiación con UV es varios órdenes de magnitud mayor que la entregada por la RI utilizada para estudios imagenológicos
- 2- que en las condiciones experimentales la fracción de supervivencia disminuye de forma importante para aquellas muestras irradiadas con RUV en comparación con las irradiadas con RI provenientes de protocolos imagenológicos.
- 3- que la frecuencia mutagénica es mayor en muestras irradiadas con UV en comparación con las irradiadas con RX, siendo menor la diferencia entre los resultados obtenidos al irradiar con lámpara manicura. (Tabla VII).

Tabla VII: Comparación de fracción de sobrevivencia y de frecuencia mutagénica entre la exposición a RUV y radiación ionizante.

Fuente de radiación	Lámpara UVC		Lámpara manicura		TC tx	RX tx
Energía administrada (J)	90	180	90	180	0,109	0,00021
Fracción de sobrevivencia	0,215	0,013	0,320	0,280	0,84	0,99
Frecuencia mutagénica	2,46e-4	4,0e-3	8,71e-5	9,32e-5	1,63e-5	1,04e-6

Discusión

El resultado de la exposición de *Saccharomyces cerevisiae* a dosis crecientes de UV (254 nm) muestran que a una dosis de 180 J/m², la letalidad es significativamente mayor en las muestras irradiadas con la lámpara UVC en comparación con las irradiadas con la lámpara de manicura. Sin embargo, para dosis más bajas, como 90 J/m², no se observó una diferencia estadísticamente significativa en la sobrevivencia entre las muestras expuestas a ambas lámparas.

Estos resultados son compatibles con estudios previos que han demostrado un mayor daño celular y menor fracción de sobrevivencia en células expuestas a radiación UVC de alta intensidad (Nunes E y Brum G 1979).

Se destaca de estos resultados, que para dosis superiores a 90 J/m², hay un aumento en la resistencia de la población celular, evidenciado por un cambio en la pendiente de la curva de sobrevivencia. Este cambio podría deberse a un mecanismo de reparación celular inducido por dosis más altas de radiación, lo que permitiría a las células sobrevivientes adaptarse y reparar parcialmente el daño causado, como se plantea en la bibliografía. Este fenómeno, denominado "efecto de reparación celular", ha sido reportado en estudios previos donde se observó que células irradiadas con dosis más altas de UV muestran una menor letalidad relativa a largo plazo debido a la activación de vías de reparación del ADN, como la reparación por escisión de bases y la reparación de doble cadena (Nunes E y Brum G 1979, Nunes et al 1984).

La frecuencia mutagénica también fue significativamente mayor en las muestras irradiadas con la lámpara UVC a dosis de 180 J/m². Este hallazgo es consistente con estudios previos que reportan un aumento en la frecuencia de mutaciones en células expuestas a altas dosis de UVC (Nunes et al 1984).

Para dosis menores o igual a 90 J/m², no se observó una diferencia significativa entre ambos tipos de lámparas.

La disminución de la fracción de sobrevivida y el aumento de frecuencia mutagénica observadas para las muestras celulares expuestas a la lámpara de manicura nos cuestiona sobre los conceptos de inocuidad de elementos de amplia distribución y bajo costo para el uso en cosmetología (Madison C. Ratycz, 2019).

Al comparar los resultados a altas dosis (180J/m²) se observa una mayor letalidad y mayor frecuencia mutagénica en las muestras irradiadas con la lámpara UVC lo cual sugeriría que la radiación emitida con la composición de longitudes de onda como la que presenta la lámpara de manicura tiene una menor capacidad de producir efectos a nivel celular aun emitiendo el mismo nivel de dosis de radiación UVC.

Esto puede deberse a que las lámparas de manicura suelen emitir luz en un rango de longitud de onda amplio que abarca UVA, UVB, UVC (80%, 4% y 16% respectivamente para nuestro equipo). Los efectos de la exposición a radiación UVA se caracterizan por producir lesiones oxidativas que podrían ser más eficientemente reparadas por los sistemas celulares, sin generar un alto número de mutaciones permanentes.

Por lo tanto se podrían estar activando mecanismos de respuesta al estrés y reparación del ADN frente a esta composición de longitudes de onda que provocan una fotoprotección frente a los daños producidos por la radiación UVC (IVANOVA, E. V. et al 1982).

El resultado de la exposición de poblaciones celulares de *Saccharomyces cerevisiae* a dosis utilizadas en estudios tomográficos de tórax (10,91 mSv), y radiográficos (0,21 mSv) no tienen una diferencia estadísticamente significativa con el control (0 mSv). Estos resultados están en línea con datos obtenidos en trabajos anteriores realizados en el Lab. de Radiobiología de la Facultad de Medicina en los cuales al irradiar muestras celulares de cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* se necesitaban de 100 a 200 Gys para observar

efectos biológicos significativos (Bracesco et al 2007). Las dosis utilizadas en radiodiagnóstico son 4 órdenes de magnitud más bajas en tomografía, y 6 en radiología.

Con respecto a la frecuencia mutagénica, se observó una disminución para las muestras expuestas a la tomografía de tórax así como a las expuestas a la radiografía de tórax. Estas diferencias observadas no tienen una diferencia estadísticamente válida. Este resultado deberá ser analizado en futuras repeticiones experimentales.

Al comparar los resultados obtenidos entre las muestras expuestas a radiación UV y las muestras expuestas a RI se puede observar la importante diferencia de nivel de energía entregada a las células en ambas condiciones experimentales, siendo muy inferior la energía (Joules) para aquellos estudios imagenológicos. Esto pone en contexto la percepción de riesgo que las personas pueden tener al exponerse a diferentes tipos de radiación ya sea natural o artificial. Es de notar la estricta regulación para el uso de las radiaciones ionizantes en medicina y la poca o nula regulación para el uso de lámparas que emiten radiación no ionizante.

Conclusiones y perspectivas

Con respecto a las Radiaciones no Ionizantes de tipo Ultravioleta los resultados mostraron su capacidad de disminuir la sobrevivencia celular y la posibilidad que poseen de inducción de mutagénesis. Lo novedoso es la detección de fracciones de UVC en las lámparas utilizadas en manicura para el secado de esmaltes de uñas además de las fracciones mayoritarias de UVA y UVB. Los resultados mostraron el potencial riesgo que no coincide con la percepción de riesgo que un individuo posee al intentar comparar una lámpara cosmética con una tomografía (ver Tabla VII) donde se comparan las energías ofrecidas por los diferentes dispositivos.

En perspectiva nuestros resultados están en consonancia con lo planteado por otros autores que implican un aporte a la discusión del efecto de las radiaciones de baja dosis de RI donde hay autores que plantean que la proporcionalidad entre el efecto mutagénico y el aumento de dosis no aplica para dosis bajas y que en realidad esto se comporta como un efecto de entrenamiento de los mecanismos de defensa para proteger del daño a las células (Siegel JA 2017),

enfrentados así a las teorías clásicas que se soportan en el principio ALARA (entregar la dosis más razonablemente baja posible) donde la proporcionalidad comienza a bajas dosis de radiación (Mac Collugh CH 2021). Los resultados obtenidos en este trabajo obligan a continuar con los estudios utilizando otros modelos biológicos, mutantes con diferentes sensibilidades, analizando posibles metabolitos post irradiación que puedan funcionar como señales e intentado explantes celulares de células irradiadas a bajas dosis en cultivos nuevos para estudiar transferencia de “inmunidad” a las radiaciones.

Referencias bibliográficas

- Boiteux S, Jinks-Robertson S. DNA repair mechanisms and the bypass of DNA damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*. 2013 Apr;193(4):1025-64.
- Bracesco N, Candrea EC, Keszenman D, Sánchez AG, Soria S, Dell M, Siede W, Nunes E. Roles of *Saccharomyces cerevisiae* RAD17 and CHK1 Checkpoint Genes in the Repair of Double-Strand Breaks in Cycling Cells. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2007;46(4):401-7.
- Bracesco N, Sosa V, Blanc L, Cotreras V, Candrea EC, Salvo VA, Hocart S, Mechoso B, Nunes E. Analysis of radioprotection and antimutagenic effects of *Ilex paraguariensis* infusion and its component rutin. *Braz J Med Biol Res*. (2018).
- Cabrera Morales CM, López-Nevot MA. Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. *Oncol (Barc)*. 2006;29(7):25-32.
- Callén Moréu, E. Genética y biología molecular de la anemia de Fanconi. Tesis doctoral Departament de Genètica i de Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona (2004)
- Chatterjee, N., & Walker, G. C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 58(8), 505-524.
- Ferrero A, Takahashi N, Vrtiska TJ, Krambeck AE, Lieske JC, McCollough CH. Understanding, Justifying, and Optimizing Radiation Exposure for CT Imaging in Nephrourology. *Nat Rev Urol*. 2019;16(4):231-44.
- Friedberg EC, Walker GC, Siede W. DNA Repair and Mutagenesis. 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2006.
- Gallagher RP, Lee TK, Bajdik CD, Borugian M. Ultraviolet Radiation. *Chronic Diseases in Canada*. 2010;29(Suppl 1):1-6.
- González-Púmariega M, Tamayo MY, Sánchez-Lamar A. La Radiación Ultravioleta. Su Efecto Dañino y Consecuencias para la Salud Humana. *Theoria*. 2009;18(2):69-80.
- Haynes RH. Formal, Empirical and Mechanistic Equations in Cellular Radiation Biology. In: Kiefer Ed, editor. *Quantitative Mathematical Models in Radiation Biology*. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag; 1988. p. 181-9.
- Hong Mu, Nicholas E. Geacintov, Jung-Hyun Min, Yingkai Zhang and Suse Broyde. Nucleotide Excision Repair Lesion-Recognition Protein Rad4 Captures a Pre-Flipped Partner Base in a Benzo[a]pyrene-Derived DNA Lesion: How Structure Impacts the Binding Pathway. *Chemical Research in thechnology*. (2017)

- Huertas P. DNA Resection in Eukaryotes: Deciding How to Fix the Break. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2010;17(1):11-16.
- Keszenman DJ, Candreva EC, Sánchez AG, Nunes E. RAD6 Gene is Involved in Heat Shock Induction of Bleomycin Resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Environ Mol Mutagen*. 2005;45:36-43.
- Lillo O. Biofísica de las Radiaciones Ionizantes – Aplicaciones en Medicina. FEFMUR; 2012.
- McCollough CH, Liu HH. Breast Dose During Electron-Beam CT: Measurement with Film Dosimetry. *Radiology*. 1995;196(1):153-157.
- Nunes E. ASM Conferences. A Role of *S. Cerevisiae* Checkpoint Protein RAD17 but Not ChK1 in the Repair of Bleomycin-induced Double-Strand Breaks in Cycling and Non-cycling Cells. *DNA Repair and Mutagenesis: From Molecular Structure to Biological Consequences*. Southampton; 2004. p. 120.
- Nunes E. Proliferación Celular y su Perturbación. Aspectos Cuantitativos y Moleculares. FEFMUR; 2006.
- Nunes E, Brum G, Candreva EC, Schenberg AC. Common Repair Pathways Acting upon UV- and X-ray Induced Damage in Diploid Cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*. 1984;45(6):593-606.
- Nunes E, Brum G. Control Genético de la Radiorresistencia en *Saccharomyces cerevisiae*. Efectos de la Cafeína. *An. Fac. Med*. 1979;2(3):207-220.
- Nunes E, Brum G, Candreva EC, Frascino AC, Schenberg. Common Repair Pathways Acting upon UV- and X-ray Induced Damage in Diploid Cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*. 1984;45(6):593-606.
- Prado F., Cortes-Ledesma F., Huertas P., Aguilera A. Mitotic Recombination in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Curr Genet*, 42: 185-198. (2003).
- Podgorsak EB. Radiation Oncology Physics: A Handbook for Teachers and Students. Vienna: IAEA; 2005.
- Ratycz MC, Lenderb JA, Gottwald LD. Multiple Dorsal Hand Actinic Keratoses and Squamous Cell Carcinomas: A Unique Presentation Following Extensive UV Nail Lamp Use. *Case Rep Dermatol*. 2019;11:286-91.
- Ronen A, Glickman BW. Human DNA repair genes. *Environ Mol Mutagen*. 2001;37(3):241-83. doi: 10.1002/em.1033. PMID: 11317342.
- Rose M, Winston F, Hieter P. Methods in Yeast Genetics. A Laboratory Course Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1990.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*. 2004;73:39-85
- Severgnini A, Lillo O, Nunes E. Analysis of Bleomycin-induced Mutagenic Function Related to the PSO4 (=XS9) Gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Environ Mol Mutagen*. 1991;18:102-106.
- Siegel JA, Pennington CW, Sacks B. Subjecting Radiologic Imaging to the Linear No-Threshold Hypothesis: A Non Sequitur of Non-Trivial Proportion. *J Nucl Med*. 2017;58(1):1-6.
- Spencer J.F.T., Spencer D.M., Smith A. Yeast Genetics. Fundamental and Applied Aspects. Springer New York. (1983).
- Tsapaki V, Damilakis J, Paulo G, Schegerer AA, Repussard J, Jaschke W, Frija G. CT Diagnostic Reference Levels Based on Clinical Indications: Results of a Large-scale European Survey. *Eur Radiol*. 2021;31(7):4459-4469.
- Toulany M. Targeting DNA Double-Strand Break Repair Pathways to Improve Radiotherapy Response. *Genes (Basel)*. 2019 Jan 4;10(1):25. doi: 10.3390/genes10010025. PMID: 30621219; PMCID: PMC6356315.
- VANOVA EV, et al. Concurrent Effect of Ultraviolet Rays of Various Wavelengths on *Saccharomyces cerevisiae* Survival. *Mikrobiologiya*. 1982;51(5):761-764.
- W. McCollough CH, Liu HH. Breast Dose During Electron-Beam CT: Measurement with Film Dosimetry. *Radiology*. 1995;196(1):153-157.

Agradecimientos

Deseamos expresar nuestro agradecimiento especialmente a los orientadores Prof. Agdo. Nelson Bracesco y Prof. Adj. Verónica Sosa por su gran apoyo y compromiso para la realización de este proyecto, los cuales fueron un pilar fundamental. Asimismo reconocemos la participación de todos los orientadores presentes durante la investigación.

Agradecemos profundamente a la Lic. Lourdes Blanc por su invaluable asistencia técnica en el proceso experimental del proyecto.