

Dosimetría biológica con los tests del Cometa y Micronúcleo en pacientes con hipertiroidismo grave, adenoma toxico y enfermedad de Plummer tratados con I¹³¹

Biological dosimetry with the Comet and Micronucleus tests in patients with serious hyperthyroidism, toxic adenoma and Plummer disease treated with I¹³¹

Fredy J. Gómez^{1,*}, Deidamia Franco⁵, Virginia Fernández Peralta¹, Jaime Segovia⁵, Francisco Cabañas Duarte¹, Mark A. Jara Ruiz², Jessica M. Jara Ruiz³, Elías D. Jara Ruiz⁴, Miguel Duarte³ & Jorge Antonio Jara Yorg³

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN-UNA), San Lorenzo, Paraguay.

²Universidad de Miami, Jackson Memorial Hospital, Miami, Florida, USA.

³Centro de Diagnóstico y Tratamiento Nuclear (CEDIN), Asunción, Paraguay.

⁴Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas (FCM-UNA), San Lorenzo, Paraguay.

⁵Universidad Católica de Asunción, Facultad de Ciencias de la Salud (UCA), Asunción, Paraguay.

*Autor correspondiente: fjgrance@yahoo.com.

Resumen: La terapia de Iodo radioactivo ¹³¹(I¹³¹) es un procedimiento de Medicina Nuclear utilizado para tratamiento de pacientes con hipertiroidismo nodular o difuso y en el cáncer diferenciado de tiroides (CDT) en estadios metastásico. El hipertiroidismo de Graves difuso y sus variedades nodulares requieren dosis diferenciadas. En el presente trabajo se buscó determinar las dosis absorbidas de I¹³¹ involucradas en el tratamiento de hipertiroidismo, utilizando métodos de dosimetría física con el formalismo MIRD que protocoliza la dosimetría de imágenes conjugadas en Medicina Nuclear, comparadas con el test del cometa y micronúcleos con lo cual establecimos la factibilidad y sensibilidad de los test a las dosis de radiación involucradas. Se ha podido determinar que el porcentaje de ADN en la cola del cometa resulta ser un buen indicador de la capacidad de absorción I¹³¹ en la glándula tiroides, que a medida que disminuya la concentración en sangre, se pudo demostrar mayor reparación del daño y puede utilizarse como referencia en nuevos estudios epidemiológicos como indicador de progresión del tratamiento, también se ha demostrado la capacidad de reparación del ADN permite que dosis de radiaciones tan extremas puedan tener una acción terapéutica y se pueda distribuir en un periodo de 50 a 100 días dentro del organismo, permitiendo observar el nivel de daño en la molécula de ADN por medio del test del cometa.

Palabras Clave: Hipertiroidismo, Dosimetría, Iodoterapia, Test del Cometa

Abstract: Radioactive Iodine ¹³¹(I¹³¹) therapy is a Nuclear Medicine procedure used to treat patients with diffuse or nodular hyperthyroidism and in differentiated thyroid cancer (DTC) in metastatic stages. Diffuse Graves' hyperthyroidism and its nodular varieties require differentiated doses. In the present work, we sought to determine the absorbed doses of I¹³¹ involved in the treatment of hyperthyroidism, using physical dosimetry methods with the MIRD formalism that protocolizes the conjugate image dosimetry in Nuclear Medicine, compared with the comet and micronucleus test, with which We established the feasibility and sensitivity of the tests to the radiation doses involved. It has been possible to determine that the percentage of DNA in the comet's tail turns out to be a good indicator of the I¹³¹ absorption capacity in the thyroid gland, which as the concentration in blood decreases, greater repair of the damage could be demonstrated and can be used As a reference in new epidemiological studies as an indicator of treatment progression, the DNA repair capacity has also been demonstrated, allowing such extreme radiation doses to have a therapeutic action and can be distributed within a period of 50 to 100 days within the body. , allowing to observe the level of damage in the DNA molecule through the comet test.

Key words: Hyperthyroidism, Dosimetry, Iodotherapy, Comet Test

Introducción

La terapia de Iodo radioactivo ¹³¹(I¹³¹) es un procedimiento de Medicina Nuclear utilizado para el hipertiroidismo nodular o difuso y el cáncer diferenciado de tiroides (CDT). El I¹³¹ es absorbido en el

estómago pasando al torrente sanguíneo y captado por la glándula tiroides, donde destruye células de la glándula enferma o el remanente tiroideo post tiroidectomía en el Carcinoma diferenciado de Tiroides (Berg *et al.*, 1996).

Recibido: 27/07/2021

Aceptado: 16/08/2021



Es muy importante el seguimiento del tratamiento de esta enfermedad, debido a la gran recurrencia de este tipo de patología en el país, cuya causa se cree es el exceso de yodo en la sal que elevan los anticuerpos antitiroideos, por lo que esta terapia con I^{131} consigue la remisión de aproximadamente el 90% de los pacientes con enfermedad de Graves. El hipertiroidismo de Graves difuso y sus variedades nodulares (Multinodular, nódulo frío y micro nodular) requieren dosis diferenciadas.

En el presente trabajo se buscó determinar las dosis absorbidas de I^{131} involucradas en el tratamiento de hipertiroidismo, utilizando métodos de dosimetría física mediante el formalismo MIRD con la técnica de dosimetría de imágenes conjugadas en la terapia del hipertiroidismo con I^{131} , comparadas con el test del cometa y micronúcleos con lo cual establecimos la factibilidad y sensibilidad de los test a las dosis de radiación involucradas. En tal sentido los test elegidos cumplieron el criterio de: la obtención de la muestra está relativamente cerca de la mayor concentración del I^{131} en el órgano, debido a que la tiroides se encuentran cerca de la mucosa bucal y el radiofármaco se distribuye en la sangre antes y después de ser metabolizada por la tiroides, se estima que las pruebas del micronúcleo con células epiteliales de la mucosa bucal y linfocitos en sangres son buenos indicadores de las dosis distribuidas en dichos compartimientos orgánicos, con una especificidad de 0.25 Gy a 5 Gy, y el test del cometa con una especificidad de 0,5 Gy a 1 Gy (Autoridad Regulatoria Nuclear, 1998).

Una diferencia fundamental en este trabajo es que no es posible utilizar una curva dosis-respuesta debido a que no tenemos una fuente radiactiva de referencia para el I^{131} que simule las condiciones del paciente tratado con I^{131} .

Las condiciones del paciente cambian según: las variables biológicas, el estadio de la enfermedad, el tratamiento realizado previamente y las condiciones físicas como la actividad suministrada. Los modelos físicos son limitados, pero resuelven una parte de la variabilidad de los datos estableciendo modelos de áreas biológicas como el trato gastroin-

testinal, el tracto respiratorio y el circulatorio, lo cual se estableció en el ICRP 23 "Referents Man" (Snyder *et al.*, 1975).

Debido a la complejidad y las distintas variables involucradas en el tratamiento, la estimación de la dosis de radiación absorbida y biológicamente dañina es determinada por diversos métodos para obtener la exactitud requerida.

En la clínica médica la dosimetría para prescribir la cantidad de I^{131} a suministrar, estaba basada enteramente en datos clínicos como la fórmula de Marinelli 404 (Marinelli, 1948) y solos con el advenir de la ecografía se midió el volumen de las tiroides con un método empírico, y se determinó de esa manera la actividad a suministrar, sin embargo las dosis de radiación (derivado de dicha estimación) para el grupo etario de mujeres en edad de procrear puede ocasionar complicaciones para el embarazo, como elevar por un tiempo el anticuerpo anti-peroxidasa (ATPO) para el embarazo descendiendo posteriormente pudiendo tardar hasta 5 años.

Por tal motivo y de modo a implementar una dosimetría clínica personalizada, se propone las aplicaciones de los test del cometa y de micronúcleo en conjunto con la dosimetría física, con lo cual la dosis de radiación terapéutica sin complicaciones puede determinarse. De esta manera estimamos mediante el monitoreo biológico el daño citogenético ocasionado por las dosis de radiación impartidas a los pacientes tratados con yodo radioactivo en un centro de medicina Nuclear comparándolo con la dosis estimada mediante métodos físicos conocido como metodología MIRD (Siegel *et al.*, 1999) y luego relacionarlos con los resultados de las pruebas genotóxicas en pacientes tratados con I^{131} en una clínica de Medicina Nuclear

Una manera de corroborar la hipótesis es realizar una dosimetría física *In vivo* (Heribert Hänscheid, *et al.*, 2013), postratamiento con el monitoreo de la tasa de dosis a los pacientes tratados por Hipertiroidismo. En tal sentido se estableció los márgenes de aplicabilidad de cada técnica para la estimación de las dosis y la factibilidad de establecer un protocolo

del test del cometa conjuntamente con la dosimetría física, implementando un sistema dosimétrico que ayudaría a establecer la dosis impartida a los órganos en riesgo en el tratamiento de Hipertiroidismo, disminuyendo el riesgo de una sobreexposición mediante la optimización del tratamiento, además de ser un indicador de buena práctica.

La especificidad del test del cometa con una especificidad de 0,5 Gy a 1 Gy se le reconoce como una técnica útil para identificar los individuos más expuestos en casos de accidentes, sin embargo, se ha demostrado que es útil en el rango de dosis terapéuticas.

Material y métodos

Se realizó un estudio de corte transversal comparativo y correlacional. La población de estudio fue de cincuenta (50) pacientes que accedieron voluntariamente a formar parte del estudio. Se estableció un grupo control en los dos tipos de ensayos, tanto del test del cometa como en el test del micronúcleo, en especial esta población de grupo control fueron personas que habían sido irradiadas y que cumplían con los criterios relacionados a la metodología de muestreo de los dos indicadores biológicos.

Las muestras se tomaron in situ, transportadas, refrigeradas y protegidas de la luz al laboratorio para su procesamiento. Para las medidas de tasa de dosis a un metro se utilizó una planilla Excel que contendrán los datos de actividad suministrada, tasa de dosis a un metro, medidas de contaminación, y fechas de muestreo para un mismo paciente.

En cuanto a la dosis absorbida en las tiroides esta se determina mediante el muestreo de las imágenes conjugadas y los datos procesados para la determinación de las dosis serán puesto en una planilla Excel, junto con los datos de porcentaje de captación de las tiroides, las actividades suministradas en mCi, identificación de los pacientes, y los datos dosimétricos necesarios para el cálculo, se aplicó la protección radiológica necesarias y los valores calculados fueron correlacionados con los datos obtenidos mediante la aplicación de los test de Micronúcleos y del Cometa.

Cada muestreo duró una semana y dos días, en

intervalos de 6 h, 12 h, 24 h, 72 h y 144 h, sin embargo, la práctica de la clínica no permitió realizar el muestreo con intervalos iguales en todos los casos. Para el muestreo biológico se realizó entre diferentes tiempos, el primero antes de incorporar el I^{131} al paciente, el segundo muestreo al tercer día después de la incorporación y el tercer muestreo al último día del intervalo preestablecido en el cronograma de muestreo de una campaña particular, el muestreo de los cincuenta pacientes duró 8 meses.

Las imágenes fueron obtenidas una posteroanterior y otra anteroposterior en cada día de muestreo, con las cuales se realizaron sus procesamientos, para luego de la calibración del sistema SPECT determinar el número de cuentas en cada imagen de tiroides adquirida por día de muestreo y paciente.

La Dosimetría Física y el monitoreo de tiroides se realizó mediciones a cincuenta pacientes, durante el tratamiento y seguimiento por cinco días, usando el detector Berthold – Contamination And Survey Monitor LB124, a 1 m de la tiroides del paciente, en posición sentada. La Dosimetría con imagen Conjugada con el método de dosimetría física para lo cual fue necesaria la calibración del sistema de adquisición de imagen y la determinación de parámetros temporales tales como el tiempo de residencia, y datos clínicos como el volumen de las tiroides antes del tratamiento.

Para la calibración del conjunto SPECT-Colimador pin-hole, se construyó una fantoma (maniquí) de metacrilato-teflón, con las dimensiones mostrada en la Figura 1 y se evaluó la Protección Radiológica necesaria para operar el equipo de modo a introducir la fuente radiactiva con una actividad medida y conocida de I^{131} , durante el menor tiempo posible con la mayor seguridad, para que el vial con el I^{131} no caiga.

Resultados y discusión

Test del Cometa

Se observa en el test del cometa que el índice de daño celular evidenciado por el porcentaje de ADN en la "cola del cometa" es mayor en la muestra obtenida en la segunda toma que en la primera,

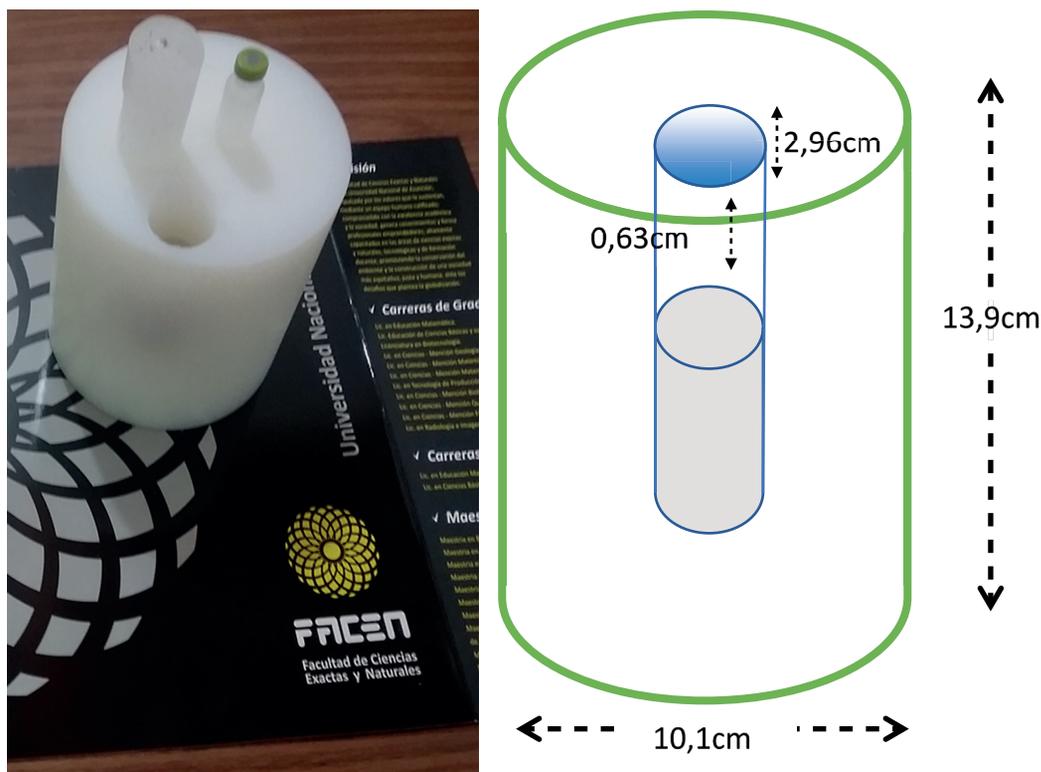


Figura 1: Dimensiones y maniquí construido en el proyecto, para calibrar el sistema SPECT.

en esta etapa del muestreo las dosis en el paciente disminuyen según el periodo efectivo del I^{131} , esto sucede para el 38% de los pacientes.

También pudimos notar que en el 30 % de los pacientes el daño disminuye (longitud de la cola del cometa) en la segunda y tercera toma de muestra, a medida que disminuye la dosis caso contrario al párrafo anterior, lo cual hace suponer un cierto grado de reparación del daño.

En el 22 % de los pacientes el porcentaje de ADN en la cola del cometa como indicador de daño aumenta en la tercera toma de muestra, es decir al final del tratamiento. El 10 % no sufre variaciones el nivel de daño basal.

Esto se puede evidenciar mediante la Tabla 1 que muestra el porcentaje de daño en el ADN y representa el resumen de los datos adquiridos de nuestra base de datos, en esta tabla se puede notar que no hay una relación directa con la actividad suministrada, cuando graficamos %ADN en cada muestra en relación con la actividad. Sin embargo,

si normalizamos el porcentaje de daño con las Dosis y graficamos esto en función de la actividad suministrada podemos obtener un indicador de progreso del tratamiento.

La Figura 2 muestra la se puede observar que la actividad suministrada no fue menor a 10 mCi y la máxima actividad suministrada de I^{131} fue de 26, 1 mCi, un aspecto muy importante para la dosimetría Biológica es que la media poblacional de la experiencia, muestra menor valor del daño normalizados a las tasas de dosis emitidas por los pacientes en la primera muestra que en las últimas muestras, es decir existe una relación exponencial negativa con el transcurso del tiempo.

Test del Micronúcleo

La evaluación genotóxica realizada por medio del test de micronúcleos y de la variación de anomalías nucleares (cigoma) en células exfoliadas de la mucosa bucal, demostró una baja frecuencia de micronúcleos para los tres tiempos de muestreo.

Tabla 1: Valores de actividad suministrada y % de daño al ADN para cada muestra.

Código	Actividad Suministrada	%DNA 1	%DNA 2	%DNA 3
202006V-1	13,7	60,03	67,75	53,31
212006V-1	20	52,36	65,6	51,39
222006N-1	19,8	80,11	67,53	61,84
231807V-1	11	71,82	66,61	75,68
241807V-1	25,5	66,97	76,95	49,77
252208V-1	23,1	65,35	62,43	63,41
262208N-1	18,4	52,66	67,75	64,98
271909V-1	19,9	80,11	73,93	51,39
281909V-1	17,3	69,82	76,95	75,2
291909V-1	24,4	66,97	61,12	74,79
302109G-1	24,3	72,84	52,19	49,77
312109G-1	24,9	72,57	66,03	73,34
322109A-1	20,6	77,53	60,6	61,43
(332410V-1)	21,7	65,32	84,81	65,79
(342111V-1)	24,6	79,09	70,46	69,68

Mientras que las evidencias de apoptosis y/o necrosis como la cariólisis y cariorrexis mostraron un aumento a casi el triple durante el segundo muestreo y una disminución de estos valores para la tercera toma de muestra. En 2000 células analizadas por cada paciente para cada una de las dosis terapéuticas suministradas, aproximadamente el 70 % de los pacientes analizados mostraron este patrón de frecuencias para las anomalías nucleares analizadas. Al mismo tiempo el resto de la población muestra un aumento de cariólisis y/o cariorrexis en la segunda radiación y en la tercera. Esta situación podría deberse a la cantidad de yodo absorbido por la tiroides, pudiéndose inferir a priori de los datos analizados que, a menor captación de yodo, se tiene una mayor presencia de yodo circulante.

Por lo que la frecuencia de micronúcleos es baja debido a que el patrón de proliferación celular en este tipo de tejido epitelial, requieren 21 días para que las células mutadas lleguen a la superficie descamable del epitelio. Siendo las células más diferenciadas y componentes de este epitelio las

más agredidas por las radiaciones, manifestando la sensibilidad con la variación de la frecuencia de cariólisis y cariorrexis.

Los resultados se pueden observar en las Figuras 3a y 3b, en donde se puede notar que el indicador biológico del test del micronúcleo tiene una frecuencia baja en relación a los otros indicadores apoptóticos.

Dosimetría Física

Respecto de la dosimetría física y del monitoreo de radiación se pudo observar que la curva de retención del I^{131} sigue la misma tendencia que la curva del monitoreo in-situ, con lo cual se corrobora la cinética de transferencia del radiofármaco en los compartimientos biológicos como la sangre, las glándulas tiroideas y las excretas.

Se observado que existe buena correspondencia entre los valores dosis absorbida estimados mediante el software: Thyroid I^{131} , Uptake estimation in Graves' disease y la aproximación sugerida en este proyecto, además comparándola con las tablas de

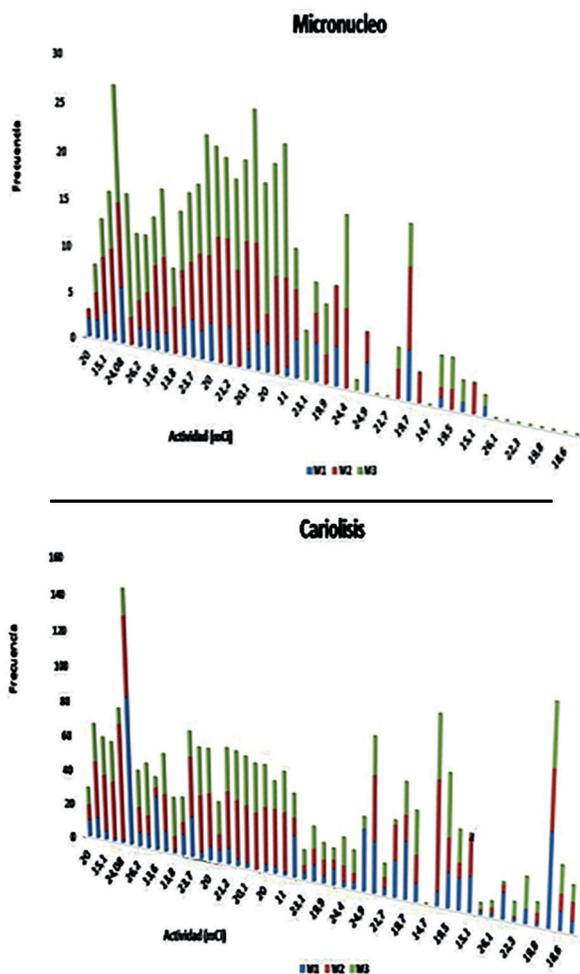


Figura 2: Grafico del %ADN normalizado por la tasa de dosis en función de la actividad suministrada.

cálculo de la Sociedad Española de Física Médica, la correlación es positiva, se debe notar que en algunos casos la desviación es muy grande, lo cual se debería a la individualidad del tratamiento y el consumo de drogas antitiroideas. Como se puede observar en la Figura 4.

Correlación entre los Test Biológicos y la dosimetría Física.

Los datos del test de micronúcleos muestran la poca sensibilidad al cambio de las dosis en las tiroides, tampoco muestra cambio respecto la Actividad (mCi), llegando a tener valores de frecuencia mayores cuando menor es la

actividad suministrada, tampoco estos valores son significativos en relación al número de células muestreadas (2000 células) y los valores relativamente más altos de otros indicadores citogenéticos.

Debido al párrafo anterior se considera que el test de micronúcleo en la **mucosa bucal** no es específico para relacionarlo con las dosis de radiación en las glándulas tiroideas.

En el caso del Test del cometa se ha observado que la variabilidad del daño demostrado por la longitud de la “cola del cometa” no es una función de la Actividad(mCi) suministrada al paciente, sin embargo, si es posible relacionar la variación del daño genético con las tasas de dosis medidas en el

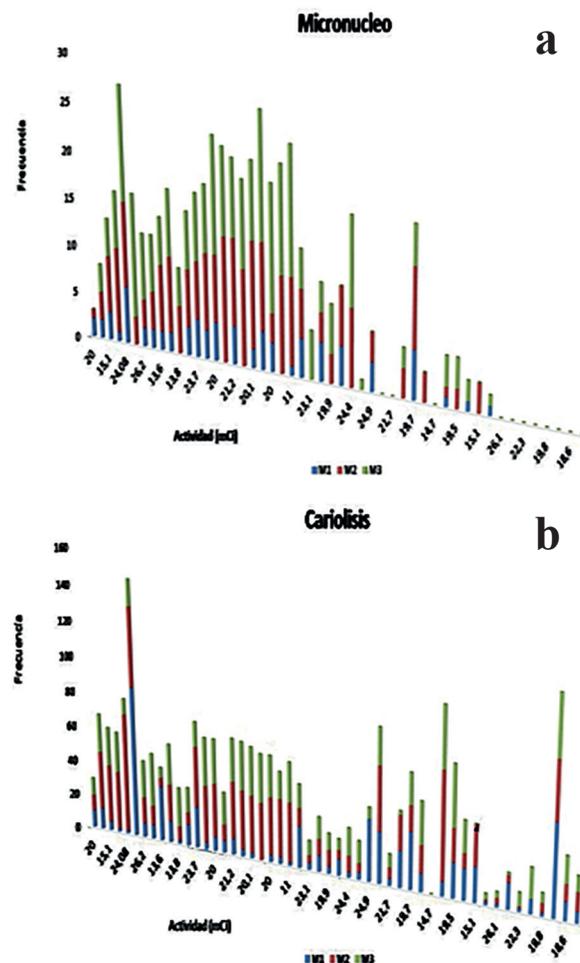


Figura 3: a) frecuencia de Micronúcleos y b) frecuencia de cariólisis.

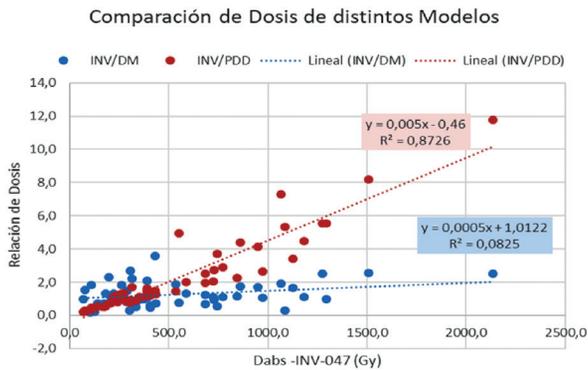


Figura 4: Datos comparativos de las tres estimaciones de dosis absorbida por la tiroides.

paciente en los días de muestreo de los linfocitos de sangre periférica.

El hecho de encontrar variación mensurable en el test del Cometa al transcurrir el tiempo y por ende al reducirse la radiactividad en la tiroides del paciente resulta en un indicador más atractivo que el test de micronúcleo.

Al comparar el coeficiente de decaimiento del daño del ADN en función del tiempo, con el periodo de descarga del I¹³¹ de las tiroides, obtenemos una correlación del 80% con lo cual se considera dicha magnitud como una posible corrección del cálculo físico de la misma magnitud expresada como el inverso de las horas de descarga, esto se muestra en la Figura 5.

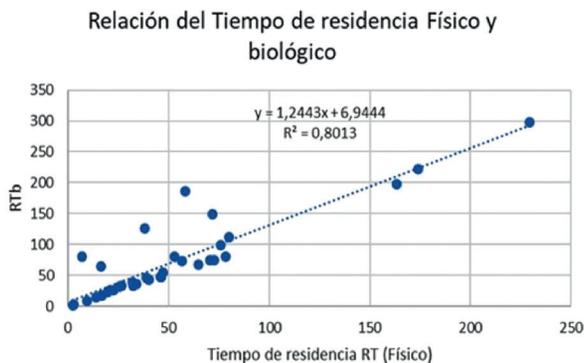


Figura 5: Gráfica de correlación entre el valor medido con el test del cometa y los valores de dosis estimados con el método de las imágenes conjugadas.

Conclusiones

En vista de los resultados observados y el estado del arte internacional respecto a los objetivos del proyecto se puede mencionar que se ha demostrado que el rango de sensibilidad del test de micronúcleo en especial en la mucosa bucal es menor que el grado de sensibilidad genotóxica del test del cometa.

El test del micronúcleo en la mucosa bucal, no específico de daño genético por radiación debido especialmente a tres factores teóricos, en primer lugar, el tiempo de permanencia y la concentración del yodo radiactivo en las glándulas salivales y la tiroides es menor, segundo las emisiones de partículas beta y su interacción entregan toda su energía en algunos milímetros, lo que haría que las capas basales de la células de la mucosa bucal sean irradiadas mucho menos que los linfocitos de sangre periférica en contacto o que hayan incorporado yodo radiactivo. Lo anterior se pudo notar por la constante de carga y descarga en los distintos compartimientos especificados en la bibliografía (Dunstana *et al.*, 2015). Una opción posiblemente de mayor sensibilidad se encuentre verificando el test del micronúcleo no en la mucosa bucal sino en linfocitos de sangre periférica.

En cuanto al Test del Cometa se ha encontrado mayor sensibilidad debido al aumento de Iodo en sangre, como consecuencia a la baja absorción de Iodo por las tiroides por lo que puede ser un indicador del progreso y perspectiva terapéutica de la enfermedad, lo cual estaría causando mayor índice de daño en el ADN, en las células de los pacientes, no así cuando las glándulas absorben mayor cantidad de Iodo, y este disminuye en sangre produciendo una disminución de % de daño en el ADN muestreado por el Test del cometa.

Por otra parte se ha demostrado la capacidad de reparación del ADN que permite que dosis de radiación tan extremas pueda tener una acción terapéutica y se pueda distribuir en un periodo de 50 a 100 días dentro del organismo, permitiendo de esta manera el nivel de daño en la molécula de ADN disminuya a medida que pasa el tiempo y la dosis vaya disminuyendo en el sistema, esto fue evidenciado por la dosimetría física al evaluar el %

de incorporación de actividad en función del tiempo de muestreo y con ello se llega a verificar las dosis absorbida por la glándula tiroides.

En conclusión, el porcentaje de ADN en la cola del cometa resulta ser un buen indicador de la capacidad de absorción de yodo 131 en la tiroides, que a medida que disminuya la concentración en sangre, mayor daño en la molécula podrá encontrarse y puede utilizarse como referencia en nuevos estudios epidemiológicos como buen indicador de tratamiento con esta modalidad.

En cuanto a las estimaciones de las dosis de radiación en las tiroides se ha demostrado la aplicabilidad de dicha dosimetría y se debe enfatizar que esta actividad y su metodología es la primera vez realizada en el país originando la posibilidad de aplicarlo tanto para mejorar la calidad del tratamiento sino también para establecer criterios de protección Radiológica y registros en el ámbito de las regulaciones.

Contribución de los autores

Los autores contribuyeron manera equitativa en la elaboración de este artículo.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Literatura citada

Berg, G., Michanek, A., Holmberg, E. & Fink, M. (1996). Iodine- 131 treatment of hyperthyroidism: significance of effective half-life measurements. *Journal Of Nuclear*

Medicine, 37(2): 228–232.

Autoridad Regulatoria Nuclear. (1998). *Curso de post-gradó en protección radiológica y seguridad nuclear*. Volumen 1. Buenos Aires: Autoridad Regulatoria Nuclear.

Snyder, W., Cook, M., Nasset, E., Karhausen, L., Parry Howells, G. & Tipton, I. (Eds.). (1975). Report of the task group on reference man. *Reports of the International Commission on Radiological Protection*, 23, 1–500.

Marinelli, L. (1949). Dosage determination in the use of radioactive isotopes. *Journal of Clinical Investigation*, 28(6)1: 1271–128.

Siegel, J., Thomas, S., & Stubbs, J. (1999). MIRD pamphlet no. 16: techniques for quantitative radiopharmaceutical biodistribution data acquisition and analysis for use in human radiation dose estimates. *Journal of Nuclear Medicine*, 40(2): 37–60.

Hänscheid, H., Canzi, C., Eschner, W., Flux, G., Luster, M., Strigari, L. & Lassmann, M. (2013). EANM Dosimetry Committee series on standard operational procedures for pre-therapeutic dosimetry II: dosimetry prior to radioiodine therapy of benign thyroid diseases. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 40(7): 1126–1134.

Dunstana, M. R., Brill, A., Zanzonico, P., Vicini, P., Moroz, B., Kwon, D. & Simon, S. (2015). Organ Dose Estimates for Hyperthyroid Patients Treated with 131 I: An Update of the Thyrotoxicosis Follow-Up Study. *Radiation Research*, 184(6): 595-610.