

EMPLEO DE ISÓTOPOS RADIATIVOS EN ESTUDIOS BIOCINÉTICOS CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

USE OF RADIOISOTOPES IN BIODYNAMIC MODELS WITH EXPERIMENTAL ANIMALS

M. Á. Morcillo Alonso¹, F. R. Martín Martín² y T. Navarro Bravo¹

¹Dosimetría de Radiaciones, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT)

²Departamento de Ciencias Biomédicas I. Facultad de Ciencias Experimentales y Técnicas, Universidad San Pablo-CEU

RESUMEN

En el presente trabajo se pretende realizar una revisión de las diferentes técnicas radioisotópicas que se utilizan con animales de experimentación a la hora de desarrollar modelos biocinéticos tanto de sustancias como de elementos químicos presentes en el medio ambiente. Dicha experimentación permite relacionar la exposición externa a un xenobiótico con la medida interna de la dosis en el organismo y, consecuentemente, sus posibles efectos tóxicos, todo ello con vistas a evaluar los efectos adversos que pudieran existir sobre la salud humana. Se hace hincapié en la macroautorradiografía de animal completo, técnica que permite la detección, localización y cuantificación del radionucleido de interés en diferentes órganos/tejidos del organismo y, por tanto, contribuye a la estimación de la dosis interna y al conocimiento del comportamiento biocinético del compuesto/elemento objeto de estudio. Se presentan algunos ejemplos de la utilidad de esta técnica en estudios biocinéticos con animales de experimentación de interés en diferentes áreas relacionadas con la Salud y el Medio Ambiente. Se destaca la utilidad que presenta esta experimentación a la hora de extrapolar el comportamiento metabólico de contaminantes de máxima radiotoxicidad en personas expuestas a la radiación ionizante, con el objeto de optimizar las evaluaciones dosimétricas y los protocolos de vigilancia que ayudan a conocer con más exactitud los daños de la exposición interna sobre la salud humana.

PALABRAS CLAVE: Modelos biocinéticos, radioisótopos, macroautorradiografía de cuerpo entero, animales de experimentación.

INTRODUCCIÓN

La evaluación de la relación dosis-respuesta es un paso clave en el proceso de evaluación del riesgo para la salud humana asociado con la exposición a sustancias

SUMMARY

Biokinetic models are useful tools to relate external exposures to internal measures of dose. The knowledge of internal dose and factors that influence absorption, distribution, metabolism, and elimination in experimental animals provide a scientific rationale for estimating low-dose human risk. A bioanalytical procedure to support biokinetic studies is the use of radiolabeled compounds, so that mass balance, autoradiography, and preliminary metabolism studies may be conducted. Whole-body autoradiography may help to identify specific xenobiotic localisation or retention sites revealing the site of toxicity or provide an insight toward the mechanism of action for xenobiotics. Some examples on the usefulness of this technique in the field of Environment and Health are illustrated. It is noted the application of these experimental studies using animals in the conception of certain biological and medical studies regarding internal contamination of fissionable elements.

KEYWORDS: Biokinetic models, radioisotopes, whole-body autoradiography, animals

químicas presentes en el medio ambiente (xenobióticos). Las aproximaciones que se emplean para establecer esta relación provienen de: estudios epidemiológicos, estudios toxicológicos en animales y evaluación de la relación estructura-actividad¹.

Correspondencia: Dr. Miguel Ángel Morcillo Alonso. Dosimetría de Radiaciones (Departamento de Impacto Ambiental de la Energía) CIEMAT. Avenida Complutense, 22. 28040. Madrid. Teléfono: 91 346 62 29. Telefax: 91 346 60 05. Correo electrónico: mangel.morcillo@ciemat.es.

Generalmente es esencial adoptar un enfoque toxicológico que incluya la experimentación animal. Éste presenta varias ventajas obvias, pero posee la incertidumbre de extrapolar los resultados de una especie a otra (es decir, definir la dosis equivalente en humanos), y trazar la curva dosis-respuesta en la región de dosis bajas (es decir, por debajo del rango que comúnmente se usa al obtener los datos experimentales). El conocimiento de la dosis interna, de la relación entre los efectos adversos y la dosimetría en el órgano/tejido diana, así como de los factores que influyen en la absorción, distribución, metabolismo y excreción de la sustancia química en el organismo (es decir, la biocinética de la sustancia) es necesario para disminuir el grado de incertidumbre cuando se estiman los riesgos para la salud a las dosis que habitualmente se encuentran presentes en el medio ambiente.

El presente trabajo pretende llamar la atención sobre la utilidad que tienen los estudios biocinéticos con animales de experimentación a la hora de relacionar la exposición externa a un contaminante químico presente en el medio ambiente con la medida interna de la dosis en el organismo, todo ello con vistas a evaluar los efectos adversos que pudieran existir sobre la salud humana. En el desarrollo de los estudios biocinéticos nos vamos a centrar en las técnicas que emplean radioisótopos como método analítico de la fase experimental.

MODELOS BIOCINÉTICOS

Un modelo biocinético es una descripción matemática en el transcurso del tiempo de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de un xenobiótico en el organismo. La biotransformación o metabolismo (cualquier alteración en la estructura química de la sustancia dentro del organismo) y la excreción (conjunto de procesos por los que la sustancia es expulsada al exterior del organismo) constituyen la eliminación. Por otra parte, la distribución (proceso de intercambio reversible de la sustancia entre la sangre y las distintas estructuras extravasales del organismo) y la eliminación componen, en su conjunto, la disposición de la sustancia. Normalmente se utiliza el término modelo farmacocinético o toxicocinético cuando el xenobiótico en cuestión es un fármaco o una sustancia química tóxica, respectivamente; el término general modelo biocinético se suele emplear en el caso de elementos químicos tóxicos, como ocurre con metales pesados (Pb, Hg, etc.) y radionucleidos (productos de fisión/activación, transuránidos, etc.).

Un estudio biocinético nos debe proporcionar la siguiente información acerca del compuesto o elemento químico objeto del estudio ²:

Velocidad y grado de absorción.

Como se distribuye el xenobiótico original y/o sus metabolitos en el organismo.

Lugar y velocidad de biotransformación e identificación de los metabolitos.

Vía de eliminación del xenobiótico original y/o sus metabolitos.

Efecto de la dosis y la forma química del xenobiótico en la absorción, distribución, metabolismo y excreción.

Los métodos empleados en el desarrollo de los modelos biocinéticos se pueden dividir en dos grupos:

Aquellos usados durante la fase experimental, los cuales incluyen la determinación de concentraciones de un determinado compuesto y/o sus metabolitos a distintos tiempos y en diferentes medios biológicos tales como sangre, plasma, orina y tejidos.

Y aquellos que corresponden al análisis y estudio de los hallazgos experimentales. Con el fin de lograr una adecuada descripción de la evolución temporal de los niveles de una sustancia en el organismo, se recurre a modelos en los que se expresan matemáticamente las velocidades de los procesos de absorción, distribución y eliminación, que finalmente llevan a ecuaciones que permiten describir y predecir las cantidades o concentraciones de la sustancia en el organismo en función del tiempo. La comparación de las predicciones del modelo con los datos que pueden obtenerse experimentalmente, permite contrastar las hipótesis de partida utilizadas en la elaboración del mismo, así como nuevas hipótesis. Se han desarrollado dos tipos principales de modelos biocinéticos: modelos compartimentales y modelos fisiológicos (o con base fisiológica) ^{3,5}.

TÉCNICAS RADIOISOTÓPICAS

El método analítico empleado durante la fase experimental debe permitir llevar a cabo un seguimiento metabólico de la molécula que queremos analizar, determinar su situación y cuantificarla mediante diferentes técnicas de detección. Un método idóneo es el uso de radioisótopos, ya que el comportamiento bioquímico va a ser idéntico entre la molécula en estudio y su equivalente marcado, en el cual se han sustituido uno o varios de los átomos estables por sus correspondientes radioisótopos. De esta forma, la molécula marcada es fácilmente detectable por diferentes técnicas (autorradiografía, contaje por centelleo, etc.) en función del tipo de radiación que producen el o los radioisótopos que la componen ⁶.

En la Tabla 1 se muestran los radioisótopos más utilizados en los estudios biocinéticos con animales de experimentación. Además de los reflejados en esta tabla, otras muchas veces es el mismo radioisótopo el elemento químico objeto del estudio; por ejemplo, el estudio del comportamiento en el organismo de radionucleidos con interés radiotoxicológico en el área de la dosimetría de radiaciones (²³⁸U, ²³⁹Pu, ²⁴¹Am, etc.) o el estudio de la toxicidad química de metales pesados en el área de la toxicología ambiental (²⁰³Hg, ²¹⁰Pb, ¹⁰⁹Cd, etc.).

Tabla 1. Radioisótopos más utilizados en estudios biocinéticos con animales de experimentación.

Radionucleido	T _{1/2}	Emisión máxima
¹⁴ C	5730 años	156 keV (β ⁻)
³ H	12,4 años	18,6 keV (β ⁻)
¹²⁵ I	59,6 días	35 keV (γ y X)
³⁵ S	87,4 días	167 keV (β ⁻)

Los métodos empleados para la medida de la radiactividad aprovechan los efectos producidos por la radiación al interactuar con la materia. El sistema de detección a emplear dependerá del tipo de radiación producida por el radioisótopo de interés; así, si queremos cuantificar la radiactividad total en muestras biológicas (sangre, orina, tejidos, etc.) que contienen un radioisótopo emisor beta o gamma recurriremos a un contador de centelleo líquido o sólido, respectivamente; si nuestro interés se centra en la cuantificación de un emisor alfa emplearemos el centelleo líquido o la espectrometría alfa. Aunque a continuación vamos a comentar brevemente cuales son los principios del contaje por centelleo, haremos hincapié en otro sistema de detección de radiactividad de mucha utilidad en estudios biocinéticos con animales de experimentación cuando se emplean radioisótopos, la macroautorradiografía de animal completo (MARG). La autorradiografía (localización y registro de un radionucleido dentro de un espécimen sólido) en cortes de animal completo, permite la detección y cuantificación del radionucleido de interés en diferentes órganos/tejidos del organismo y, por tanto, contribuye a la estimación de la dosis interna y al conocimiento del modelo biocinético del compuesto/elemento objeto de estudio.

CONTAJE POR CENTELLEO

Los contadores de centelleo se basan en la conversión de la radiación emitida por el radionucleido en impulsos luminosos (fotones) que inciden sobre el fotocátodo del detector, produciendo una avalancha de electrones. Los e⁻ desprendidos inician una descarga eléctrica, que es amplificada en un tubo fotomultiplicador y detectada como un impulso eléctrico por el contador. El fotomultiplicador convierte el destello de luz en un pico de voltaje (pulso o cuenta), de muy corta duración. El número de cuentas producidas en un tiempo conocido de medida de la radiactividad de la muestra biológica se expresa normalmente en cuentas por minuto (cpm).

La conversión de la radiación emitida por el radionucleido en impulso luminoso se realiza gracias a la existencia de sustancias fluorescentes que son capaces de captar la radiación pasando sus e⁻ a un estado excitado. Posteriormente, los e⁻ vuelven a su estado basal, emitiendo la energía recibida en forma de fotones. Las sustancias fluorescentes utilizadas pueden ser líquidas (centelleo líquido) o sólidas (centelleo sólido). El uso de uno u otro tipo de contador depende del tipo de radionucleidos que se necesite medir, utilizando contadores de centelleo sólido y líquido para emisores gamma y beta, respectivamente ⁷.

En condiciones óptimas, los contadores de centelleo líquido detectan la radiactividad emitida por emisores beta con una eficiencia entre el 60% (³H) y el 95% (¹⁴C). Cuando se analiza la radiactividad total presente en las muestras biológicas, éstas deben ser tratadas previamente al análisis con el fin de disminuir las interferencias que se producen en el proceso de transferencia de energía (por autoabsorción y extinción); el proceso implica solubilizar, digerir y decolorar las muestras antes de su análisis ⁸. En el caso de la medida de la radiactividad emitida por emisores gamma, las muestras no deben ser procesadas, ya que la radiación producida es capaz de salir de la muestra y alcanzar directamente el detector.

MACROAUTORRADIOGRAFÍA DE ANIMAL COMPLETO

La MARG fue utilizada por primera vez por Ullberg en el año 1954 ⁹ para el estudio de la distribución y metabolismo de [³⁵S]-benzilpenicilina en ratones. Esta técnica permite visualizar la distribución bidimensional de un compuesto/elemento químico marcado con un radioisótopo incluso en pequeñas estructuras anatómicas o en regiones localizadas de un órgano ¹⁰.

Tras la administración del xenobiótico marcado, se procede al sacrificio del animal de experimentación y una vez fijado (mediante técnicas habituales en histología, en el caso de sustancias no difusibles, o mediante congelación, en el caso de sustancias altamente difusibles), se procede a la obtención de cortes suficientemente finos del animal completo (de 50 a 100 µm de espesor). A continuación se procesan las secciones de forma que puedan ser fácilmente manipuladas a temperatura ambiente (deshidratación mediante alcoholes de graduación creciente, o liofilización).

La actividad que se suele emplear en la MARG varía entre los 3-4 kBq/kg de peso corporal para moléculas marcadas con ¹²⁵I o ¹⁴C y los 20-30 kBq/kg de peso corporal para compuestos marcados con ³H, datos extraídos de estudios con ratas .

DETECCIÓN DE EMISORES BETA Y GAMMA

La visualización de la distribución de la radiactividad emitida por emisores beta o gamma en las secciones de animal completo, se realiza mediante la aposición de dichas secciones a películas que contienen emulsiones fotográficas formadas por cristales de haluro de plata suspendidos en una fase compuesta mayoritariamente de gelatina. Esta exposición ha de realizarse a bajas temperaturas (-20°C a -80°C) para evitar en lo posible el ennegrecimiento espontáneo de las películas ("fogging"). Cuando las partículas beta o los rayos gamma pasan a través de la emulsión, los iones plata se convierten en átomos de plata. Esta imagen latente se transforma en una imagen visible durante el proceso de revelado, sistema de amplificación en el cual los átomos de plata se reducen a plata metálica. Los cristales que no han estado expuestos se extraen por disolución en un fijador, resultando en una imagen autorradiográfica la cual representa la distribución de la radiactividad en la muestra original⁷. Los tiempos de exposición para las actividades empleadas normalmente (ver párrafo anterior) varían entre 3 semanas para el ¹⁴C, 6 semanas para compuestos marcados con ¹²⁵I y 10 semanas para compuestos con ³H.

En la Figura 1 se aprecia una imagen autorradiográfica obtenida tras exponer una sección sagital de una rata, después de la administración [¹⁴C]-Espiramicina, con una película radiográfica Hyperfilm β-Max (Amersham). El trabajo fue realizado para estudiar ciertos aspectos poco conocidos de la farmacocinética de este antibiótico macrólido que era empleado para el tratamiento y control de varias infecciones bacterianas y micoplásmicas en animales y utilizado como aditivo en el pienso de animales destinados a la producción de alimentos¹¹. Como se observa en la figura, la radiactividad se distribuyó por prácticamente todo el organismo, excepto por el cerebro y la

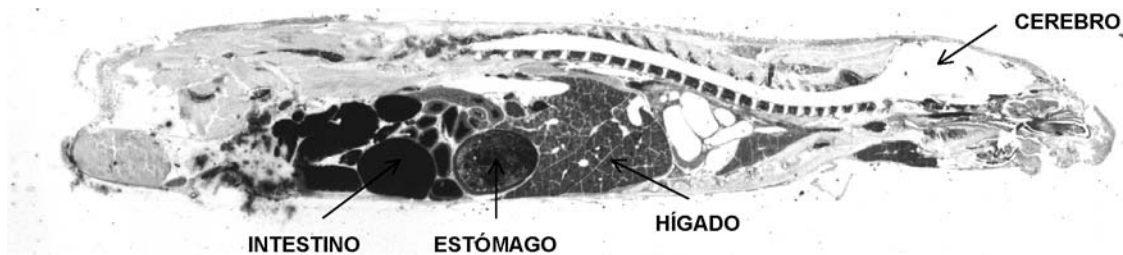


Figura 1. Imagen autorradiográfica de una sección sagital a nivel medio obtenida de una rata 2 horas después de la administración intravenosa de 4 kBq/kg de peso corporal de [¹⁴C]-Espiramicina.

médula espinal (por tanto, no hay paso a través de la barrera hematoencefálica). Los mayores niveles de radiactividad se encontraron en el estómago e intestino, lo que sugiere que un elevado porcentaje del fármaco y/o sus metabolitos se excretan por vía fecal.

La presencia de radiactividad en un órgano o tejido puede ser debida al depósito del xenobiótico original y/o de sus metabolitos. Para discernir que porcentaje de la radiactividad presente en un órgano/tejido corresponde a una u otra molécula se tiene que recurrir a técnicas que permitan separar el xenobiótico original de sus posibles metabolitos e identificar que molécula/s llevan asociadas el radioisótopo. Una de las técnicas analíticas que más se utilizan a la hora de separar estas moléculas es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); una vez separadas el xenobiótico original de sus metabolitos, a la salida de la columna empleada se conecta "on-line" un monitor de radiactividad que detecta si algún pico cromatográfico (correspondiente a una molécula determinada) lleva asociado radiactividad. En la Figura 2 se muestra el registro cromatográfico obtenido tras inyectar en el HPLC una alícuota de una muestra de bilis de rata recogida durante 1 hora después de la administración intravenosa de [¹⁴C]-Pipotiazina, un neuroléptico empleado en el tratamiento de la esquizofrenia¹². Como se observa en la figura, el método permite detectar, además del xenobiótico original, aquellos metabolitos que llevan el radioisótopo en su estructura molecular.

Como comentamos anteriormente, la MARG permite localizar un determinado compuesto/elemento químico marcado con un radioisótopo en pequeñas estructuras anatómicas o en regiones localizadas de un órgano. Este fue el caso de un trabajo realizado con el objeto de estudiar la toxicocinética del mercurio en ratas expuestas durante 2 meses a distintas concentraciones de ²⁰³HgCl₂ en el agua de bebida (3,7 kBq/ml, el ²⁰³Hg es un emisor gamma). Inicialmente, el estudio nos permitió estimar la fracción absorbida a través del tracto gastrointestinal, la cantidad retenida en el animal (dosis interna), la fracción de Hg excretada por vía urinaria y fecal y evaluar el efecto de la dosis en la absorción, distribución y eliminación del Hg del organismo¹³. Posteriormente, mediante MARG, visualizamos el lugar preciso del depósito renal del Hg, siendo éste la parte más externa de la zona medular del riñón que se corresponde con la parte recta del túbulo proximal (ver Figura 3), responsable en último término de la nefrotoxicidad producida por la exposición al mercurio inorgánico. Éste es un claro ejemplo en el que podemos relacionar la exposición externa a un tóxico presente en el medio ambiente con la dosis interna en el organismo y

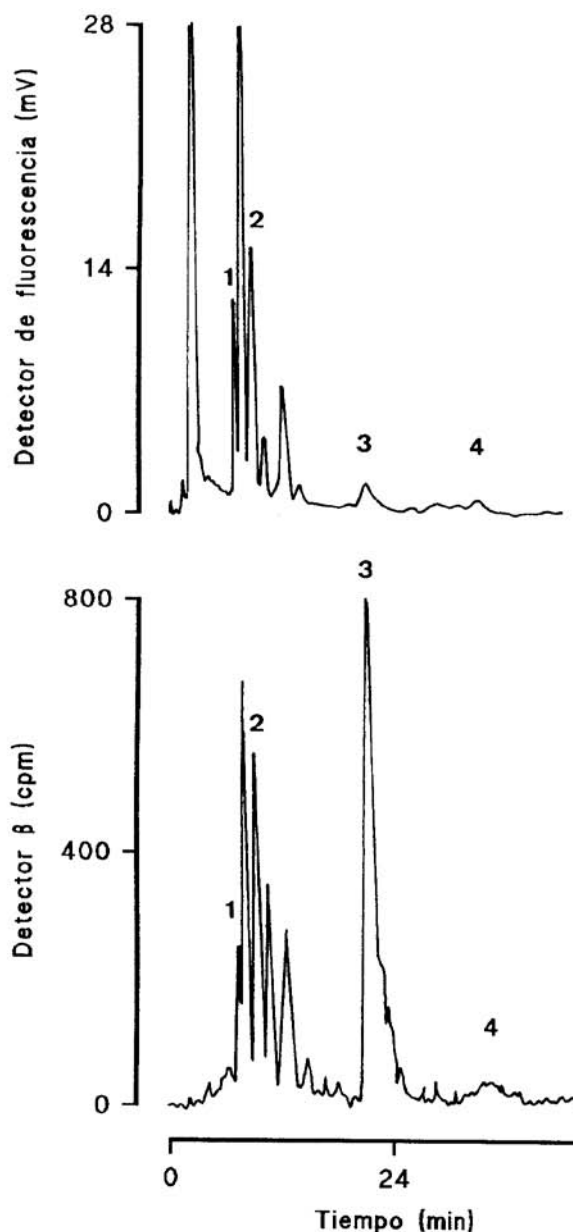


Figura 2. Cromatogramas obtenidos tras el análisis mediante HPLC de un extracto básico de bilis, 1 hora después de la administración intravenosa de 6 kBq/kg de peso corporal de [¹⁴C]-Pipotiazina. Tanto la pipotiazina (1) como sus metabolitos 7-hidroxi-pipotiazina (2), sulfóxido de pipotiazina (3) y N-óxido de pipotiazina (4) fueron detectados a la salida de la columna mediante un detector fluorimétrico ($\lambda_{ex}=270$ nm y $\lambda_{em}=470$ nm). La radiactividad asociada a cada pico fue detectada mediante un detector Berthold LB-503 acoplado "on-line".

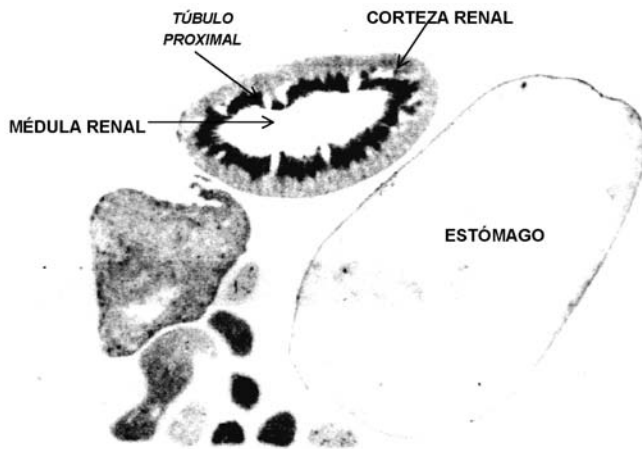


Figura 3. Imagen autorradiográfica de una sección sagital lateral obtenida de una rata expuesta a 100 ppm de mercurio (en forma de $^{203}\text{HgCl}_2$) en el agua de bebida durante 8 semanas (3,7 kBq/ml). Se muestra un detalle de la zona del estómago y del riñón con el objeto de visualizar el lugar donde se deposita preferentemente el Hg en el riñón (en la parte recta del túbulo proximal).

en el órgano/tejido diana y, además, con su efecto tóxico. Además, en la fase final del estudio aislamos la proteína que une la mayor parte del ^{203}Hg depositado en el riñón, la metalotioneína, y observamos que cuando se satura la capacidad de esta proteína de unir Hg, el riñón tiene limitada la capacidad de acumular el metal y los síntomas nefrotóxicos hacen su aparición¹⁴.

Aunque generalmente la distribución cuantitativa de la radiactividad presente en cada órgano/tejido se realiza mediante conteo por centelleo líquido o sólido, dependiendo del tipo de emisor, también se puede estimar mediante MARG. El análisis cuantitativo de la imagen obtenida se realiza tras exponer una serie de patrones radiactivos junto con las muestras objeto del estudio con el fin de relacionar los diferentes niveles de ennegrecimiento (niveles de gris) producidos (tras digitalizar la imagen) con la cantidad de radiactividad existente en las muestras mediante un análisis densitométrico; el espesor de las muestras y las características del material radioprensible de la emulsión radiográfica hacen que el método sea semicuantitativo, ya que la respuesta es lineal en un rango muy estrecho.

En estos últimos años se ha desarrollado una nueva técnica, denominada macroautorradioluminografía de animal completo¹⁵⁻¹⁸, que en vez de usar películas radiográficas utiliza una pantalla de fósforo compuesta de cristales de fluorobromuro de bario activado con europio (BaFBr:Eu^{2+}). Estos cristales son capaces de almacenar la energía liberada en la emisión de partículas beta o rayos gamma; la energía almacenada se convierte en luminiscencia después de ser estimulada la pantalla con un haz fino de láser. Ésta luminiscencia se detecta en un tubo fotomultiplicador y se convierte en una señal eléctrica generando una imagen cuantitativa que representa la distribución de la radiactividad en las secciones en estudio del xenobiótico marcado. Este método crea de forma automática imágenes digitalizadas, es capaz de cuantificar en un rango más amplio y también obtener resultados cuantitativos en un tiempo mucho más corto que el empleado con las películas radiográficas¹⁹.

DETECCIÓN DE EMISORES ALFA

En el caso de radionucleidos emisores alfa, la determinación de los valores de actividad en tejidos y excretas mediante técnicas radiométricas implica, generalmente, un proceso de mineralización del material biológico, extracción del radionucleido mediante cromatografía y, finalmente, preparación de la muestra para su posterior análisis mediante espectrometría alfa o de centelleo líquido. Este proceso es laborioso y requiere una considerable cantidad de tiempo para la medida de cada muestra. Alternativamente, la actividad en diferentes órganos/tejidos puede estimarse mediante MARG, no obstante, la detección y cuantificación de emisores alfa en secciones de animal completo mediante la utilización de películas radiográficas y pantallas de fósforo es ineficaz. Ésta se puede llevar a cabo mediante DTS (Detección por Trazas en Sólidos), sistema que se ha utilizado para estudiar la microdistribución de radionucleidos a en tejidos humanos²⁰.

Los detectores sólidos de trazas nucleares son detectores pasivos a la radiación ionizante (por ejemplo CR-39, polímero de alil diglicol carbonato). Como tales, una partícula energética que incide sobre ellos les produce un daño permanente que puede ser visualizado y analizado mediante procesos adecuados en cualquier momento posterior a su registro. El método DTS se puede resumir en tres pasos²¹:

Exposición a la radiación ionizante. Consiste en colocar el detector plástico en contacto íntimo con el corte sagital de animal completo; las partículas alfa que pasan a su través rompen el polímero a lo largo de su trayectoria.

Revelado químico de la traza. Después de la exposición del detector plástico a la radiación ionizante, éste se somete a un ataque químico de desgaste superficial, produciéndose un ataque preferencial en las zonas donde incidió la partícula alfa a lo largo de su trayectoria incidente, formándose un "cono" que se le suele llamar traza grabada. En este proceso de revelado los parámetros básicos son: las características propias del material del detector plástico, el tipo de solución química de grabado y su concentración (generalmente una disolución de NaOH o KOH 6-7N), la temperatura de revelado (60-80 °C) y el tiempo de permanencia en la solución (unas horas).

Caracterización y lectura de la traza. Finalmente, después del revelado químico, se obtiene una traza microscópica de entre 10 y 100 μm , que deberá ser detectada y caracterizada. El procedimiento de conteo más directo es usar un microscopio óptico. De esta forma, el número de trazas grabadas por unidad de área nos dará una idea del número de partículas incidentes, y el tamaño de la traza, medido en la superficie del material, indicará la energía de la partícula. En condiciones establecidas de revelado químico se puede obtener una eficiencia de detección superior al 90%. Para la lectura de las trazas, se pueden utilizar sistemas simples, como la lectura directa o una cámara de TV acoplada a un microscopio óptico y un monitor de vídeo; otros más complejos, basados en densitometría, y otros, actualmente los más avanzados, por medio del análisis digital de imágenes, que permite automatizar las labores de conteo y determinación de superficies y factores de forma²².

Si conjuntamente con los cortes sagitales de animal completo se exponen patrones de actividad conocida (Figura 4), se puede relacionar la densidad de trazas (expresión

sada en nº trazas/mm²) con la actividad (expresada en Bq/g tejido) presente en un órgano/tejido, que es el valor que interesa a la hora de desarrollar el modelo biocinético del radionucleido en estudio²³. Además, esta técnica también permite la visualización del radionucleido en zonas concretas de un órgano o tejido, localización que es de extrema importancia a la hora de evaluar los efectos sobre la salud tras la exposición a la radiación ionizante.

Esta metodología seguida en animales de experimentación, autorradiografía DTS, nos proporciona información referente al comportamiento metabólico de contaminantes de máxima radiotoxicidad en el organismo (U, Pu, Am, etc.), información de gran interés a la hora de optimizar evaluaciones dosimétricas y protocolos de vigilancia que ayuden a conocer con más exactitud los daños de la exposición interna a la radiación ionizante sobre la salud en sujetos bien sean trabajadores expuestos a la radiación ionizante (mediante inhalación o ingestión de material radiactivo) o miembros del público. La estimación de la dosis se basa en cálculos de la actividad en tejidos y excretas tras la incorporación del radionucleido en cuestión, cálculos que están basados en un conjunto de modelos biocinéticos, recomendados por la ICRP (Comisión Internacional de Protección Radiológica), que describen el comportamiento de los radionucleidos en el organismo y proporcionan las ecuaciones para calcular las tasas de transferencia dentro y fuera del organismo.



Figura 4. Esquema de la técnica autorradiografía DTS (Detección por Trazas en Sólidos) utilizada para detectar y localizar emisores alfa en secciones de animal completo.

BIBLIOGRAFÍA

1. PNUMA/IPCS/CEPIS. Tutorial en Evaluación de Riesgos. 1999, Disponible en: www.cepis.ops-oms.org/tutorial/
2. Buchanan, R. J.; Burka, L. T.; Melnick, R. L. Purpose and guidelines for toxicokinetics studies within the National Toxicology Program. *Environ Health Perspect* 1997;105(5):468-471.
3. Wen, Y. H.; Kalf, J.; Peters, R. H. Pharmacokinetic modeling in toxicology: a critical perspective. *Environ Rev* 1999;7:1-18.
4. Bernillon, P.; Bois, F. Y. Statistical issues in toxicokinetic modeling: a bayesian perspective. *Environ Health Perspect* 2000;108(suppl 5):883-893.
5. Institute for Environment and Health (UK). Physiologically-based pharmacokinetic modelling: A potential tool for use in risk assessment. 1999, Disponible en: www.le.ac.uk/ieh/pdf/cr4.pdf.
6. Usera, F. Técnicas sustitutivas a la utilización de radioisótopos marcadores en investigación biológica. *Radioprotección* 1995;9:7-15.
7. L'Annunziata M. F. Radionuclide Tracers: Their detection and measurement. 1 ed. London (UK): Academic Press; 1987.
8. Kessler, M. J. (ed.). Liquid Scintillation Analysis. Meriden (CT): Packard Instrument Co.; 1989.
9. Ullberg, S. Studies on the distribution and fate of ³⁵S-labelled benzylpenicilin in the body. *Acta Radiol* 1954;188(Suppl.):1-110.
10. Shimada, M.; Watanabe, M. Recent progress in whole-body radioautography. *Cell Mol Biol* 1995;41(1):39-48.
11. Morcillo, M. A.; Romay, M.; Santamaría, J. Pharmacokinetics, metabolism and distribution studies of drugs using radiolabelled compounds in experimental animals: [¹⁴C]-spiramycin. Primer Congreso Virtual sobre Farmacia (ICVF); Enero-Diciembre 1998.
12. Romay, M. Farmacocinética y metabolismo de la pipotiazina en ratas. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra; 1994.
13. Morcillo, M. A.; Santamaría, J. Whole-body retention, and urinary and fecal excretion of mercury after subchronic oral exposure to mercuric chloride in rats. *BioMetals* 1995;8:301-308.
14. Morcillo, M. A.; Santamaría, J. Mercury distribution and renal metallothionein induction after subchronic oral exposure in rats. *BioMetals* 1996;9:213-220.
15. Motoji, N.; Hayama, E.; Shigematsu, A. Studies on the quantitative autoradiography. I. Radioluminography for quantitative autoradiography of ¹⁴C. *Biol Pharm Bull* 1995;18(1):89-93.
16. Motoji, N.; Hamai, Y.; Niikura, Y.; Shigematsu, A. Studies on the quantitative autoradiography. I. Quantative comparison of a novel tissue-mold measurement technique "paste-mold method" to the semiquantitative whole body autoradiography (WBA), using the same animals. *Biol Pharm Bull* 1995;18(1):100-107.
17. Motoji, N.; Hayama, E.; Shigematsu, A. Radioluminography for quantitative autoradiography of ¹⁴C. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1995;20(2):89-105.
18. Potchoiba, M. J.; Tensfeldt, T. G.; Nocerini, M. R.; Silber, B. M. A novel quantitative method for determining the biodistribution of radiolabeled xenobiotics using whole-body cryosectioning and autoradioluminography. *J Pharm Exp Therapeutics* 1995;272(2):953-962.
19. Coe, R. A. J. Quantitative whole-body autoradiography. *Regul Toxicol Pharmacol* 2000;31(2):S1-S3.
20. Fews, P. A.; Hensaw, D. L. Alpha-particle autoradiography in CR-39: a technique for quantitative assessment of alpha-emitters in biological tissue". *Phys Med Biol* 1983;28(5):459-474.
21. Espinosa, G. Trazas nucleares en sólidos. 1 ed. México D.F. (México): Editorial Cromocolor S.A.;1994.
22. Morcillo MA, Carlos R, Santamaría J. Autorradiografía de emisores alfa mediante detección por trazas en sólidos (DTS): Una técnica para su cuantificación en muestras biológicas. Comunicaciones al VI Congreso de la Sociedad Española de Protección Radiológica; 1996 Septiembre 24-27; Córdoba. Radioprotección (Nº Extraordinario); 1996.
23. Morcillo MA, Santamaría J. Modelos biocinéticos de emisores alfa. Aplicación de la autorradiografía DTS. Comunicaciones al VII Congreso de la Sociedad Española de Protección Radiológica; 2000 Septiembre 27-29; Gran Canaria. Radioprotección (Nº Extraordinario); 2000.