

### III. OTRAS DISPOSICIONES

#### CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR

- 311** *Resolución de 11 de diciembre de 2018, del Consejo de Seguridad Nuclear, por la que se publica el Convenio de colaboración con la Universidad Autónoma de Barcelona, para el proyecto de I+D sobre «Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad».*

El Presidente del Consejo de Seguridad Nuclear y la Rectora de la Universidad Autónoma de Barcelona han suscrito, con fecha 15 de noviembre de 2018, un Convenio para el proyecto de I+D sobre «Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad».

Para general conocimiento, y en cumplimiento de lo establecido en el artículo 48.8 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, dispongo la publicación en el «Boletín Oficial del Estado» del referido Convenio, como anejo a la presente Resolución.

Madrid, 11 de diciembre de 2018.—El Presidente del Consejo de Seguridad Nuclear, Fernando Marti Scharfhausen.

#### ANEJO

**Convenio de colaboración entre el Consejo de Seguridad Nuclear y la Universidad Autónoma de Barcelona para el proyecto de I+D sobre «Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad»**

#### REUNIDOS

De una parte don Fernando Marti Scharfhausen, Presidente del Consejo de Seguridad Nuclear (en adelante CSN), cargo para el que fue nombrado por el Real Decreto 1732/2012, de 28 de diciembre («BOE» número 313, del 29), en nombre y representación de este Organismo, con domicilio en la calle Justo Dorado n.º 11 de Madrid y número de identificación fiscal Q2801036-A.

De otra parte doña Margarita Arboix Arzo, rectora de la Universitat Autònoma de Barcelona (en adelante UAB), según decreto 260/2016, de 31 de mayo, publicado en «Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya» («DOGC») núm. 7133, de 2 de junio, como representante de ésta, con domicilio social en Campus Universitari s/n, 08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallés) y con número de identificación fiscal (NIF) Q-0818002-H, en virtud de las competencias que le otorga el artículo 75 párrafo m) de los Estatutos.

Ambos intervienen para la realización de este acto por sus respectivos cargos y en el ejercicio de las facultades que, para convenir en nombre de las Entidades a que representan, tienen conferidas y, a tal efecto,

#### EXPONEN

Primero.

Que el CSN, como único organismo competente en materia de seguridad nuclear y protección radiológica, tiene legalmente asignada la función de evaluar el impacto radiológico de las instalaciones nucleares y radiactivas y de las actividades que impliquen

el uso de radiaciones ionizantes, así como la de controlar y vigilar la calidad radiológica del medio ambiente de todo el territorio nacional.

Segundo.

Que el CSN suscribe el presente convenio en ejercicio de la función que le atribuye su Ley de Creación (Ley 15/1980, de 22 de abril) en su artículo 2, letra p), que es la de establecer y efectuar el seguimiento de planes de investigación en materia de seguridad nuclear y protección radiológica.

Tercero.

Que el Plan de Investigación y Desarrollo del CSN 2016-2020, aprobado por el Pleno del CSN en junio de 2016, establece como línea de investigación la Radiobiología, siendo uno de los campos de interés para el desarrollo de las tareas reguladoras del CSN la búsqueda de nuevas evidencias sobre mecanismos de producción de daño y de respuesta biológica a las radiaciones ionizantes.

Cuarto.

Que la UAB es un organismo público de carácter multisectorial y pluridisciplinario, que lleva a cabo actividades de docencia, investigación y desarrollo científico y tecnológico, y está interesada en colaborar con los sectores científicos y socioeconómicos de nuestro país.

Quinto.

Que el CSN y la UAB han colaborado en el pasado para el desarrollo de diversos proyectos de investigación, dedicados a la dosimetría biológica del personal profesionalmente expuesto, a la detección de anomalías cromosómicas mediante técnicas de hibridación «in situ», al estudio del efecto genético de las radiaciones ionizantes a largo plazo en un modelo *in vitro*, a la evaluación citogenética de la eficacia biológica relativa de Rayos X de baja energía, y a la detección del daño genético inducido por las radiaciones ionizantes en células de interfase, con aplicaciones en dosimetría biológica. Todos estos proyectos se han desarrollado de forma satisfactoria tanto para el CSN como para la UAB.

Sexto.

Que, a la vista de los excelentes resultados obtenidos hasta ahora, el CSN y la UAB consideran conveniente continuar realizando actividades conjuntas de investigación, encaminadas a profundizar en el conocimiento de los efectos genéticos de las radiaciones ionizantes, y en la búsqueda de biomarcadores de radiosensibilidad.

Séptimo.

Que el Convenio supone una cooperación entre el CSN y la UAB con la finalidad de garantizar que los servicios públicos que les incumben se prestan de modo que se logren los objetivos que tienen en común; y que el desarrollo de dicha cooperación se guía únicamente por consideraciones relacionadas con el interés público.

Octavo.

Que las Partes consideran que la colaboración entre ellas en este campo contribuirá al mejor cumplimiento de los objetivos propios de cada una de ellas, y aumentará el conocimiento científico y técnico en este ámbito en beneficio de todas las Partes.

Por todo ello, las Partes convienen en formalizar el presente Convenio con sujeción a las siguientes:

### CLÁUSULAS

#### Primera. *Objeto.*

El objetivo general de este Convenio es la realización de un estudio sobre la detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes y la evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad.

El alcance de las actividades que se considera necesario realizar para alcanzar estos objetivos se detalla en la Memoria Técnica que se adjunta a este Convenio como Anexo 1.

#### Segunda. *Vigencia.*

El plazo de ejecución de las actividades contenidas en el Convenio es de tres años, contados a partir de la fecha de su firma. No obstante, el Convenio podrá ser objeto de modificación o prórroga por mutuo acuerdo de las Partes si fuera necesario rectificar las actividades acordadas o variar su plazo de ejecución, y siempre que ello sea compatible con el respeto a las obligaciones presupuestarias legalmente establecidas. En este caso, se formalizará la oportuna Cláusula Adicional, que se ajustará a los límites temporales establecidos en el artículo 49 de la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del sector Público, con las condiciones de la prórroga o modificación con anterioridad a la fecha de vencimiento del Convenio.

#### Tercera. *Obligaciones de las partes.*

Son obligaciones de la UAB dentro de este Convenio:

- Realizar las actividades que se describen en la Memoria Técnica que se adjunta, relacionadas con los objetivos descritos en la cláusula primera.
- Poner a disposición del Convenio el personal necesario para garantizar la máxima calidad de los trabajos en él incluidos. En caso de ser necesario un esfuerzo de personal mayor del que se ha estimado en el momento de la firma del Convenio, ambas partes lo revisarán siguiendo lo indicado en la cláusula segunda.
- Contribuir a la financiación de los gastos del Convenio en la forma que se describe en la cláusula cuarta.
- Poner a disposición del CSN los resultados, métodos, códigos, metodologías, y, en general, toda la información que se genere durante la realización de las actividades objeto de este Convenio.
- Documentar los trabajos realizados dentro del Convenio, en la forma que se describe en la Memoria Técnica (Anexo 1 a este Convenio).

Son obligaciones del CSN dentro de este Convenio:

- Contribuir a la financiación de los gastos del Convenio en la forma que se describe en la cláusula cuarta.
- Poner a disposición de la UAB los datos e información de que disponga, y que pudieran ser necesarios para la realización de los trabajos.

#### Cuarta. *Presupuesto y financiación.*

El coste total del Convenio comprenderá las partidas correspondientes a: recursos humanos; amortización del material inventariable durante la ejecución del proyecto; material fungible; realización de viajes, asistencia a congresos; y publicación de los resultados del proyecto. Las cantidades correspondientes a cada uno de estos conceptos se detallan en la Memoria Económica que se incluye como Anexo 2 de este Convenio.

Sobre la base de estas cantidades, se obtienen unos gastos totales para este proyecto de I+D plasmado en este Convenio de cuatrocientos cuarenta y nueve mil setecientos sesenta y ocho euros con ochenta y cuatro céntimos (449.768,84 €). El CSN aportará la cantidad de doscientos quince mil novecientos veintiséis euros con treinta y tres céntimos (215.926,33 €). El resto hasta alcanzar el coste total del Convenio será aportado por la UAB.

La distribución de esta contribución del CSN a la UAB se establece en aportaciones anuales, correspondiendo a la aplicación presupuestaria con código 20.302.424M.640, abonándose cada uno de los pagos tras la correspondiente emisión por parte de la UAB de la nota de cargo, en la forma y plazos que se detallan en la Memoria Económica.

Las citadas cantidades serán satisfechas por el CSN previa entrega y aceptación de la documentación que se define en la Memoria Técnica y en la Memoria Económica, y se abonarán condicionadas a la previa existencia de crédito específico y suficiente en cada ejercicio, con cumplimiento de los límites establecidos en el artículo 47 de la Ley General Presupuestaria.

Estas condiciones económicas podrán ser revisadas en caso de producirse alguna modificación de las bases del Convenio y de sus contenidos técnicos y presupuestarios.

Tanto el CSN como la UAB realizan en el mercado abierto menos del 20% de las actividades objeto de la cooperación.

#### Quinta. *Seguimiento del convenio.*

El CSN y la UAB establecerán una Comisión de Seguimiento, designando respectivamente como Coordinadores Técnicos del Convenio a los siguientes técnicos:

Por el CSN: Subdirección de Protección Radiológica Ambiental (doña Asunción Díez Sacristán).

Por la UAB: Don Joan Francesc Barquiner Estruch.

Los Coordinadores Técnicos serán responsables de controlar el desarrollo del Convenio, y de adoptar, por mutuo acuerdo, las decisiones necesarias para la buena marcha de las actividades contempladas en el mismo. Para ello, podrán asesorarse de los expertos que consideren oportuno.

#### Sexta. *Terminación y suspensión.*

Las Partes, por motivos razonables, podrán rescindir o suspender temporalmente este Convenio, preavisando con al menos tres meses de antelación a la fecha en que la resolución deba ser efectiva.

En tal caso, las Partes se comprometen a abonar el importe de los trabajos y gastos incurridos y los comprometidos a los que ineludiblemente haya que hacer frente pese a la resolución del Convenio.

La UAB entregará al CSN un informe de los resultados obtenidos hasta el momento de la interrupción y podrá utilizar libremente dichos resultados, siempre que se salvaguarden las condiciones estipuladas en las cláusulas Séptima y siguientes.

#### Séptima. *Confidencialidad*

Ambas Partes conceden, con carácter general, la calificación de información reservada a la obtenida en aplicación de este Convenio de colaboración, por lo que asumen de buena fe el tratamiento de restricción en su utilización por sus respectivas organizaciones, a salvo de su uso para el destino o finalidad pactados o de su divulgación, que habrá de ser autorizada previamente caso por caso.

La aplicación en otros proyectos de los conocimientos adquiridos por las Partes como consecuencia de su participación en este proyecto no estará restringida por ninguna condición adicional.

Octava. *Propiedad de los resultados y publicaciones.*

Los resultados de las actividades que se realicen dentro del alcance de este Convenio pertenecerán exclusivamente a las Partes, como únicos titulares de los mismos.

En caso de que los trabajos o resultados del Convenio sean objeto de difusión, ya sea oral o escrita, por cualquiera de las Partes, esta deberá ser aprobada por ambas. Para la cesión a terceros de los resultados del Convenio, se deberá contar con el acuerdo conjunto y escrito de las Partes que hayan intervenido en la consecución de dichos resultados.

Novena. *Modificación.*

Los términos del Convenio se podrán revisar o modificar en cualquier momento a petición de cualquiera de las Partes, de manera que puedan introducirse de mutuo acuerdo tales modificaciones o revisiones.

Las disposiciones de las cláusulas Sexta y siguientes subsistirán después de la terminación por rescisión del presente Convenio.

Décima. *Régimen jurídico.*

El presente Convenio tiene naturaleza administrativa, sometiéndose a la Ley 40/2015, de 1 de octubre, de Régimen Jurídico del Sector Público, a las demás normas generales de Derecho Administrativo, los principios de buena administración y al ordenamiento jurídico en general.

Undécima. *Controversias.*

La interpretación del Convenio se realizará bajo el principio de buena fe y confianza legítima entre las Partes, que convienen en solventar de mutuo acuerdo las diferencias que pudieran presentarse en su aplicación. Para ello, surgida la controversia, cada parte designará un representante si bien, en el caso de no lograrse común acuerdo, las Partes someterán la cuestión al conocimiento y competencia de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa, de conformidad con lo establecido en la Ley 29/1998, de 13 de julio, reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa.

Habiendo leído el presente por sí mismos y hallándose conformes, lo firman por duplicado ejemplar y a un solo efecto en Madrid, a 15 de noviembre de 2018.—Por el Consejo de Seguridad Nuclear, el Presidente, Fernando Marti Scharfhausen.—Por la Universidad Autónoma de Barcelona, la Rectora, Margarita Arboix Arzo.

## ANEXO 1

### **Memoria técnica del Convenio de colaboración entre el Consejo de Seguridad Nuclear y la Universidad Autónoma de Barcelona para el proyecto de I+D sobre «Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad»**

#### *Memoria técnica del proyecto*

##### 1. Resumen de la propuesta.

Tradicionalmente los biomarcadores cuantitativos de la exposición a una dosis de radiación se han basado en el recuento de las alteraciones cromosómicas presentes en linfocitos de sangre periférica. Esta aproximación requiere de la realización de cultivos celulares de un mínimo de 48h, y es relativamente tediosa durante el análisis al microscopio. Recientemente se han propuesto otros biomarcadores basados en la detección de la respuesta celular inicial frente al daño genético inducido. Entre ellos el más aceptado es la detección de las roturas de doble cadena en el DNA inducidas por las radiaciones ionizantes (RI). La detección se realiza mediante técnicas de inmunotinción

que marcan las histonas H2AX fosforiladas ( $\gamma$ -H2AX) cercanas a la rotura de doble cadena, así como otras proteínas que se acumulan en la zona dañada, y que están relacionadas con la reparación del DNA. La técnica permite observar acumulaciones discretas o «*foci*» de  $\gamma$ -H2AX u otras proteínas en el núcleo celular, que muestran una relación con la dosis de irradiación.

El presente proyecto propone la puesta a punto y validación del recuento de *foci* para su posible utilización como biomarcador cuantitativo que permita detectar diferencias interindividuales en la respuesta inicial al daño genético. Además el proyecto también incluye aspectos básicos sobre la interacción de las RI con el ADN, como es la correlación entre los *foci* y la formación de alteraciones cromosómicas.

## 2. Antecedentes.

En los últimos años, se están evaluando nuevos biomarcadores de exposición a las radiaciones ionizantes (RI) con la intención de determinar su utilidad para detectar la variabilidad interindividual en la sensibilidad a las RI, así como incrementar la rapidez en la estimación de la dosis recibida en caso que los nuevos biomarcadores sean utilizables en dosimetría biológica. El análisis de biomarcadores clásicos como cromosomas dicéntricos o translocaciones cromosómicas, es la metodología más aceptada por su fiabilidad en dosimetría biológica. Si bien estos tipos de análisis se han adaptado a situaciones de emergencia a gran escala (Di Giorgio et al., 2011; Rohm et al., 2013; Gruel et al., 2013), su utilización como biomarcadores de radiosensibilidad no se han mostrado suficientemente discriminadores ya que la respuesta entre individuos a una dosis de RI es muy homogénea. Estos aspectos han sido ampliamente tratados en dos proyectos europeos en los que integrantes del presente proyecto han participado, MULTIBIODOSE y RENEB (Romm et al., 2013, 2014; Ainsbury et al., 2014; Kulka et al., 2012, 2014, 2016; Barquinero et al., 2016). Uno de los nuevos biomarcadores de radiosensibilidad, es el análisis de las alteraciones cromosómicas inducidas en la fase G<sub>2</sub> del ciclo celular (G<sub>2</sub>-test). Si bien este test ha mostrado que las células de pacientes de cáncer mostraban un mayor daño cromosómico que las de individuos control (De Ruyck et al., 2008), el análisis a nivel individual no permite discriminar individuos más o menos radiosensibles (Vral et al., 2002).

Entre los nuevos métodos que permiten una detección rápida de la exposición a RI están aquellos relacionados con la detección directa de los daños inicialmente inducidos en la molécula de DNA. Uno de los efectos de las RI a nivel celular es la inducción de roturas de doble cadena (DSB) en el DNA. Inmediatamente después de la inducción de DSB, centenares de moléculas de la histona H2AX se fosforilan en la Serina 139 ( $\gamma$ -H2AX) en la región que flanquea la DSB (Rogaku et al., 1998; Ivashkevich et al., 2012). Esta fosforilación mediada por la proteína ATM (Bakkenist y Kastan 2003), sirve para acumular proteínas implicadas en la reparación de DSB, como la 53BP1, en el lugar dónde se encuentra el DSB (Schultz et al., 2000).

La presencia de  $\gamma$ -H2AX, así como de otras proteínas como 53BP1, puede visualizarse microscópicamente mediante técnicas de inmunofluorescencia utilizando anticuerpos específicos, en forma de acumulaciones discretas denominadas *foci*. Se ha descrito que el número de *foci* incrementa linealmente con la dosis de RI, lo que permite su utilización como biomarcadores cuantitativos de exposición a RI. La ventaja de utilizar este tipo de biomarcadores es que permite estimar la dosis de una exposición en muy poco tiempo, ya que no es necesario realizar cultivo celular (Lobrich et al., 2005; Leatherbarrow et al., 2006; Rothkamm et al., 2007; Sak et al., 2007).

La relación dosis efecto para la inducción de *foci* de  $\gamma$ -H2AX, ha sido establecida en numerosos estudios (p. ej. González et al., 2010; Roch-Lefèvre, 2010; Redon et al., 2010; Mandina et al., 2011; Horn et al., 2011; Moroni et al., 2013). Además, esta técnica se ha utilizado para comparar la dosis estimada por distintos laboratorios (Rothkamm et al., 2013 a, b) y se ha sugerido como un potente biomarcador de radiosensibilidad (Rothkamm & Löbrich, 2003; Ivashkevich et al., 2012; Goodarzi & Jeggo, 2012), aunque no siempre se ha podido correlacionar la radiosensibilidad clínica y la celular (Brzozowska et al., 2012).

La fosforilación de la histona H2AX es una modificación transitoria que permite reclutar otras proteínas relacionadas con la reparación de los DSB, que también se colocan de forma transitoria. Diversos estudios ponen de manifiesto que el número de *foci* de  $\gamma$ -H2AX aumenta durante los primeros 30-45 minutos post-irradiación y luego disminuye rápidamente (Roch-Lefèvre et al., 2010; Redon et al., 2010; Horn et al., 2011; Mandina et al., 2011; Moroni et al., 2013). Pese a ello, el número de *foci* puede ser significativamente superior al basal incluso 96 h después de la exposición. Esto permite discriminar, de forma cualitativa, si ha habido o no exposición. Sin embargo, para una estimación cuantitativa de dosis la muestra de linfocitos se debe procesar entre 1 y 24 h tras la exposición. Es por ello que cada laboratorio debe elaborar diversas curvas dosis efecto, a diferentes horas tras la exposición, para poder estimar la dosis con fiabilidad (Horn et al., 2011).

Grupos nacionales o internacionales que trabajan en la materia específica del proyecto o en materias afines.

Actualmente existe en Europa un creciente interés de los laboratorios de radiobiología en aplicar técnicas de inmunofluorescencia para la detección de *foci* de  $\gamma$ -H2AX. Esta técnica se utiliza para estimar la dosis en caso de exposición accidental a RI (dosimetría biológica), principalmente como método precoz de cribado de individuos potencialmente expuestos; prueba de ello son las recientes intercomparaciones publicadas (Rothkamm et al., 2013 a, b; Barnard et al., 2014). Pero esta técnica también es utilizada como biomarcador para detectar de forma precoz individuos radiosensibles (Lobachevsky P et al., 2016; Borrás et al., 2016). Pese a que en España existen varios laboratorios que utilizan biomarcadores de dosis, en todos ellos se utiliza el recuento de aberraciones cromosómicas radioinducidas (dicéntricos, translocaciones o micronúcleos) para la estimación de dosis. Únicamente nuestro grupo de investigación ha puesto a punto la técnica del análisis de *foci* de  $\gamma$ -H2AX para su posible utilización como sistema de detección precoz de individuos radiosensibles ni de estimación de dosis.

Estudios preliminares realizados por el grupo solicitante, utilizando la metodología propuesta en el convenio.

Nuestro grupo ya ha puesto a punto la técnica de inmunofluorescencia para detectar *foci* de  $\gamma$ -H2AX (Borrás et al., 2015). Hemos desarrollado diversos *software* (a partir de programarios libres como son CellProfiler y ImageJ), que nos permiten realizar un contaje semiautomático del número de *foci* en función de la intensidad de los píxeles (González et al., 2012a). Esto nos ha permitido realizar un primer estudio en el que se evaluaba la radiosensibilización de células utilizando anticuerpos contra receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (González et al., 2012b). Sin embargo, debido a que los *foci* suelen tener un tamaño muy pequeño, su detección depende del plano de enfoque en el microscopio. Por ello, para hacer el análisis lo más objetivo posible, hemos realizado pruebas capturando imágenes con un microscopio confocal y con dos microscopios de fluorescencia (con filtros diferentes) y analizándolas con los *software* que hemos desarrollado. En estas pruebas el microscopio confocal ha permitido detectar alrededor de un 30% más de *foci* de  $\gamma$ -H2AX que los microscopios de fluorescencia. Este resultado es esperado puesto que en el microscopio de fluorescencia todos los *foci* se observan en el mismo plano, mientras que el microscopio confocal permite diseccionar el núcleo en varios planos lo que permite a su vez distinguir *foci* de diferentes planos que en el microscopio de fluorescencia quedan superpuestos (Borrás et al., 2015). Además, y gracias al convenio anterior con el Consejo de Seguridad Nuclear (CSN) «Detección de daño genético inducido por las radiaciones ionizantes en células de interfase. Aplicaciones en Dosimetría Biológica», disponemos de un microscopio de fluorescencia Metasystems con la aplicación MetaCyte. Esta aplicación es capaz de tomar varias imágenes de un mismo campo a diferentes profundidades de foco y en función de las intensidades realizar el recuento de *foci*. Esta aplicación la hemos ensayado sobre todo con líneas celulares (Borrás et al., 2016), pero para que sea funcional en el campo de la radiosensibilidad necesitamos de un entrenamiento previo a realizar con linfocitos de sangre periférica. Poner a punto el

recuento de *foci* con el MetaCyte disminuirá el tiempo necesario para realizar el análisis microscópico.

Bibliografía:

- Ainsbury EA, et al. (2014) Multibiodose radiation emergency triage categorization software. *Health Phys.* 107: 83-89.
- Bakkenist CJ, Kastan MB (2003) DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 421: 499-506.
- Barnard S, et al, The first gamma-H2AX biodosimetry intercomparison exercise of the developing European Biodosimetry Network RENEb. *Radiat Prot Dosimetry.* (2014) Aug 12. pii: ncu259.
- Barquinero, et al. RENEb biodosimetry intercomparison analyzing translocations by FISH. *Int J Radiat Biol.* 2016 Oct 5:1-6. [Epub ahead of print].
- Borràs M, et al. Comparison of methods to quantify histone H2AX phosphorylation and its usefulness for prediction of radiosensitivity. *Int J Radiat Biol.* 2015;91(12):915-24.
- Borràs M, et al. Differences in DNA Repair Capacity, Cell Death and Transcriptional Response after irradiation between a Radiosensitive and a Radioresistant Cell Line. *Scientific Reports.* 2016; | 6:27043 | DOI: 10.1038/srep27043.
- Brzozowska K, et al. (2012) In vivo versus in vitro individual radiosensitivity analysed in healthy donors and in prostate cancer patients with and without severe side effects after radiotherapy. *Int J Radiat Biol* 88(5): 405-413.
- De Ruyck K, et al. Chromosomal radiosensitivity in head and neck cancer patients: evidence for genetic predisposition? *Br J Cancer.* 2008 May 20;98(10):1723-38.
- Di Giorgio M, et al. Biological dosimetry intercomparison exercise: an evaluation of triage and routine mode results by robust methods. *Radiat Res* (2011) 175(5):638-649.
- González JE, et al. Induction of gamma-H2AX foci in human exfoliated buccal cells after in vitro exposure to ionising radiation. *Int J Radiat Biol* (2010) 86(9):752-759.
- González JE, et al. Quantitative image analysis of gamma-H2AX foci induced by ionizing radiation applying open source programs. *Anal Quant Cytol Histol.* (2012) 34(2):66-71.
- González JE, et al. Radiosensitization induced by the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies cetuximab and nimotuzumab in A431 cells. *Cancer Biol Ther.* (2012) 15:71-76.
- Goodarzi AA, Jeggo PA. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. *Mutat Res* (2012) 736:39-47.
- Gruel G, et al. Biological dosimetry by automated dicentric scoring in a simulated emergency. *Radiat Res* (2013) 179(5):557-569.
- Horn S, et al. Gamma-H2AX-based dose estimation for whole and partial body radiation exposure. *PLoS One.* 2011;6(9):e25113.
- Ivashkevich A, et al. Use of the  $\gamma$ -H2AX assay to monitor DNA damage and repair in translational cancer research. *Cancer Lett* (2012) 327(1-2):123-133.
- Kulka U, et al. Realising the European Network of Biodosimetry (RENEb). *Radiat Prot Dosimetry.* (2012) 151:621-625
- Kulka U, et al. REALISING THE EUROPEAN NETWORK OF BIODOSIMETRY: RENEb-STATUS QUO. *Radiat Prot Dosimetry.* 2014 Sep 9. pii: ncu266. [Epub ahead of print].
- Kulka, et al. RENEb - Running the European Network of biological dosimetry and physical retrospective dosimetry. *Int J Radiat Biol.* 2017, 93:2-14.
- Leatherbarrow EL, et al. Induction and quantification of gamma-H2AX foci following low and high LET-irradiation. *Int J Radiat Biol* (2006) 82(2):111-118.
- Lobachevsky P, et al. Compromised DNA repair as a basis for identification of cancer radiotherapy patients with extreme radiosensitivity. *Cancer Lett.* 2016 Sep 28;383(2):212-219.
- Löbrich M, et al. In vivo formation and repair of DNA double-strand breaks after computed tomography examinations. *Proc Natl Acad Sci USA* (2005) 102(25):8984-8989.
- Mandina T, et al. Dose-response relationship of  $\gamma$ -H2AX foci in human lymphocytes after X-rays exposure. *Radiation Measurements* (2011) 46:997-999.



- Moroni M, et al. Evaluation of the gamma-H2AX assay for radiation biodosimetry in a swine model. *Int J Mol Sci* (2013) 14(7):14119-14135.
- Redon CE, et al. The use of gamma-H2AX as a biodosimeter for total-body radiation exposure in non-human primates. *PLoS One* (2010) 5(11):e15544.
- Roch-Lefèvre S, et al. Quantification of gamma-H2AX foci in human lymphocytes: a method for biological dosimetry after ionizing radiation exposure. *Radiat Res* (2010) 174(2):185-194.
- Rogakou EP, et al. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *J Biol Chem*(1998) 273: 5858–5868.
- Romm H, et al. Web-based scoring of the dicentric assay, a collaborative biodosimetric scoring strategy for population triage in large scale radiation accidents. *Radiat Environ Biophys*. 2014 53:241-254.
- Romm H, et al. Automatic scoring of dicentric chromosomes as a tool in large scale radiation accidents. *Mutat Res* (2013) 756(1-2):174-183.
- Rothkamm K, Löbrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proc Natl Acad Sci USA* (2003) 100(9):5057-5062.
- Rothkamm K, et al. Leukocyte DNA damage after multi-detector row CT: a quantitative biomarker of low-level radiation exposure. *Radiology* (2007) 242(1):244-251.
- Rothkamm K, et al. Manual versus automated  $\gamma$ -H2AX foci analysis across five European laboratories: can this assay be used for rapid biodosimetry in a large scale radiation accident? *Mutat Res* (2013a) 756(1-2):170-173.
- Rothkamm K, et al. Laboratory intercomparison on the  $\gamma$ -H2AX foci assay. *Radiat Res*. (2013b) 180(2):149-155.
- Sak A, et al. gamma-H2AX foci formation in peripheral blood lymphocytes of tumor patients after local radiotherapy to different sites of the body: dependence on the dose-distribution, irradiated site and time from start of treatment. *Int J Radiat Biol* (2007) 83(10):639-652.
- Schultz LB, et al. p53 binding protein 1 (53BP1) is an early participant in the cellular response to DNA double-strand breaks. *J Cell Biol*(2000) 151:1381–1390.
- Vral A, et al. The micronucleus and G2-phase assays for human blood lymphocytes as biomarkers of individual sensitivity to ionizing radiation: limitations imposed by intraindividual variability. *Radiat Res*. 2002 Apr;157(4):472-7.

### 3. Objetivos científicos, tecnológicos, ambientales o de otro tipo.

#### Objetivo general del proyecto:

Implementar las técnicas que permiten detectar la respuesta celular inicial a las roturas de doble cadena en el DNA inducidas por las radiaciones ionizantes para su uso potencial en la identificación de individuos radiosensibles.

#### Alcance:

- Establecer en nuestro laboratorio una nueva técnica de detección del daño inicial radio-inducido que se reconoce internacionalmente como relevante, ya sea para la detección de individuos radiosensibles, como para el cribado de individuos en casos de accidentes con un número muy elevado de individuos potencialmente expuestos.
- Evaluar la variabilidad interindividual en la cinética de aparición y desaparición de *foci* de  $\gamma$ -H2AX radio-inducidos, y si esta está relacionada con la formación de alteraciones cromosómicas.

#### Objetivos concretos del proyecto:

a. Puesta a punto de la detección de *foci* de  $\gamma$ -H2AX en linfocitos de sangre periférica con el sistema MetaCyte.

Se evaluará tanto la detección de  $\gamma$ -H2AX como de 53BP1, y se desarrollará la rutina para la detección automática de *foci* mediante MetaCyte. Este objetivo permitirá determinar

qué marcaje es el más adecuado para la elaboración de la curva dosis-efecto y para estudios de cinética.

b. Establecer curvas dosis efecto mediante el análisis de *foci* para distintos individuos control a distintos tiempos post-irradiación (2, 4 y 24 horas).

c. Evaluar la posible variabilidad interindividual analizando la cinética de aparición y desaparición de *foci* analizando un mínimo de 5 individuos.

d. Establecer la relación entre la presencia *foci* y la formación de alteraciones cromosómicas.

Hasta el momento no existen estudios en los que se evalúen factores que puedan modificar la respuesta inicial a las roturas de doble cadena (detectadas como *foci*), y si esta modificación puede también influir en la frecuencia de las distintas anomalías cromosómicas que se pueden observar en metafase. La consecución de este objetivo pretende dar luz a los mecanismos de formación de las alteraciones cromosómicas.

Otro objetivo que se realizará durante el presente proyecto es el de establecer contactos con servicios de Oncología radioterápica con el fin de reclutar individuos que sigan un tratamiento de radioterapia y que muestren una radiotoxicidad muy elevada. El objetivo a largo plazo es evaluar si el análisis de *foci* puede ser utilizado como un biomarcador de radiosensibilidad a tratamientos oncológicos. Este tipo de estudios requieren la aprobación previa de comités de ética, y en el presente proyecto nos planteamos iniciar una discusión con oncólogos radioterápicos para poder proponer en un futuro un proyecto conjunto. Así como iniciar el proceso requerido para que el estudio en pacientes sea evaluado por una comisión de ética.

#### 4. Justificación del proyecto.

El consorcio MULTIBIODOSE (MBD, [www.multibiodose.eu](http://www.multibiodose.eu)), en el que hemos participado, ha desarrollado y validado varios métodos como biomarcadores de exposición a RI, tomando como estándar el análisis de cromosomas dicéntricos. El objetivo era doble, por una parte determinar si los nuevos métodos permiten estimar la dosis correctamente y por otra conocer su aplicabilidad frente a un incidente radiológico de gran envergadura en el cual se requiera una estimación rápida de la dosis recibida en un número muy elevado de personas. De entre los distintos métodos nuevos uno de los más prometedores fue la detección de *foci* de  $\gamma$ -H2AX. Más recientemente participamos en un nuevo proyecto europeo, denominado RENEb (<http://reneb.eu/>). Este segundo proyecto tenía como objetivo armonizar los distintos métodos utilizados en dosimetría biológica, entre ellos el análisis de *foci* de  $\gamma$ -H2AX. Cabe destacar que en este nuevo proyecto la Universidad Autónoma de Barcelona actúa como *Workpackage leader* en la armonización de las técnicas de FISH para la estimación de dosis mediante el recuento de translocaciones (método propuesto para la estimación de exposiciones crónicas o estimaciones retrospectivas).

En España no existe ningún laboratorio que haya puesto a punto la técnica de detección de  $\gamma$ -H2AX de forma operativa para su utilización como biomarcador de exposiciones a RI, ya sea para su posible utilización como cribado de individuos expuestos a RI, como para la determinación de individuos radiosensibles, por lo que este proyecto estaría plenamente justificado de acuerdo con los antecedentes expuestos. Teniendo en cuenta que todos los estudios mencionados se han centrado en el análisis únicamente de  $\gamma$ -H2AX, la incorporación en este proyecto de otro marcador, los *foci* de 53BP1, podría suponer un avance en la mejora del análisis cuantitativo del daño inicial. Por último, el estudio de la cinética de aparición y desaparición de los *foci*, y de su correlación con las aberraciones cromosómicas observadas en metafase, podría aportar datos significativos al estudio de las diferencias interindividuales en radiosensibilidad..

#### 5. Metodología y plan de trabajo.

Para la consecución de los objetivos propuestos se obtendrá sangre periférica de donantes sanos y sin historial de exposiciones a agentes mutágenos; el donante firmará un consentimiento informado antes de la obtención de la muestra. Este procedimiento ha

sido aprobado el 19/09/2014 por la Comisión de Ética en Experimentación Animal y Humana de la UAB (ref 2624).

En relación al primer objetivo, debemos en primer lugar poner a punto la aplicación MetaCyte y finalizar los estudios comparativos entre los diferentes microscopios, para escoger aquel con el que se obtiene un mejor balance rapidez-fiabilidad. Este objetivo se realizará irradiando las muestras a 1Gy. Para ello se utilizará una fuente de Cs 137 ubicada en la Unidad de Protección Radiológica de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Para la consecución de los restantes objetivos, las irradiaciones se realizarán en el Servicio de Radiofísica y Radioprotección del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona. Se utilizará un acelerador lineal de electrones, y la energía de los rayos X será de 6MV. Las condiciones específicas de irradiación se establecerán durante el proyecto.

Para elaborar las curvas dosis-efecto, se irradiarán muestras de sangre periférica (0.2, 0.5, 1, 1.5, 2 y 3 Gy). Una vez irradiadas las muestras se aislarán los linfocitos y se procederá al marcaje con inmunofluorescencia de la  $\gamma$ -H2AX y/o 53BP1, dependiendo de los resultados del primer objetivo. Se realizarán 3 curvas dosis-efecto a tres tiempos post-exposición 2, 4 y 24 h.

Para el estudio de la variabilidad interindividual se irradiarán muestras de distintos individuos, mínimo 5, a una dosis de 1 Gy y se estudiará la cinética de aparición y desaparición de *foci* radioinducidos analizando 6 tiempos post-irradiación comprendidos entre los 10 minutos y las 4 horas. Este objetivo servirá para conocer la posible variabilidad en la respuesta en individuos sanos, para más adelante afrontar un estudio de pacientes oncológicos que muestren una radiotoxicidad muy elevada.

Para establecer la relación entre la presencia de *foci* y la formación de alteraciones cromosómicas, se utilizarán muestras irradiadas a 1 Gy.

6. Cronograma (concreción del plazo o período en el que se va a desarrollar el programa o actividad).

Los distintos objetivos se realizarán durante los 36 meses del proyecto. A continuación se indica la temporalización de los distintos objetivos, y se indican los investigadores responsables de cada actividad.

Cronograma:

Objetivo	Primer año												Segundo año												Tercer año																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36					
a	■	■	■	■																																					
b				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																
c																									■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
d																																								■	■

a) Durante los 4 primeros meses del proyecto se podrá a punto la rutina MetaCyte para detectar *foci* de  $\gamma$ -H2AX y de 53BP1 (Responsables de la acción: Becario/a propuesto, técnica de laboratorio, Dr. L. Barrios, Dra. G. Armengol y Dr. JF Barquintero). Al final del 4º mes se determinará qué tipo de *foci* se utilizará para la consecución de los restantes objetivos (Responsables de la acción: Becario/a propuesto, Dr. L. Barrios, Dra. G. Armengol, Dr. JF Barquintero y Dra. MR Caballín).

b) A partir del 4º mes, y hasta el décimo se realizarán las curvas dosis-efecto. Primeramente se establecerán las condiciones de irradiación (Responsables de la acción: Becario/a propuesto, Dr. Dr. JF Barquintero, Dr. P. Carrasco y Dra. M Ribas). Previamente a la irradiación y análisis de las muestras, éstas se codificarán, para prevenir cualquier sesgo durante el análisis. La información de cada muestra la guardará la Dra. M. Ribas, responsable de la dosimetría física durante las irradiaciones. Los responsables de las irradiaciones y el análisis de las muestras serán: Becario/a propuesto, técnica de laboratorio, Dr. L. Barrios, Dr. JF Barquintero, Dr. P. Carrasco y Dra. M. Ribas. El análisis

estadístico y discusión de los resultados se realizará del mes onceavo al decimotercero (Responsables: Becario/a propuesto, Dr. L. Barrios, Dr. JF Barquinero y Dr. P. Puig).

Durante los meses doce y trece se realizará el primer informe técnico y se elaborará una primera comunicación científica (Responsables: Becario/a propuesto, Dr. L. Barrios, Dra. MR Caballín, Dra. G. Armengol, Dra. M. Ribas, Dr. P. Puig, Dr. P. Carrasco y Dr. JF Barquinero).

c) El tercer objetivo, sobre la variabilidad interindividual se iniciará durante el segundo mes del segundo año y los responsables de la irradiaciones y análisis de las muestras serán: Becario/a propuesto, técnica de laboratorio, Dr. L. Barrios, Dra. G. Armengol, Dr. JF Barquinero y Dra. M. Ribas. El análisis estadístico y discusión de los resultados se realizará del mes 29 al 30 (Responsables: Becario/a propuesto, Dr. L. Barrios, Dra. G. Armengol, Dr. JF Barquinero y Dr. P. Puig). Durante los dos últimos meses del segundo año se realizará un informe de progreso correspondiente al segundo año (Responsables: Becario/a propuesto, Dr. L. Barrios, Dra. MR Caballín, Dra. G. Armengol, Dra. M. Ribas, Dr. P. Puig, Dr. P. Carrasco y Dr. JF Barquinero).

d) En cuanto al estudio sobre la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas este se iniciará durante el segundo mes del tercer año, y los responsables de la irradiación y del análisis de los resultados serán los mismos que los del apartado anterior.

Durante los meses 34, 35 y 36, se elaborará un segundo informe técnico final, y se elaborará una segunda comunicación científica (Responsables: Becario/a propuesto, Dr. L. Barrios, Dra. MR Caballín, Dra. G. Armengol, Dra. M. Ribas, Dr. P. Carrasco, Dr. P. Puig y Dr. JF Barquinero).

#### 7. Beneficios del proyecto, difusión y, en su caso, explotación de los resultados.

El proyecto «Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad» se incluye en la disciplina de radiobiología (código UNESCO: 2418). El proyecto se centra en la primera respuesta celular al efecto clastogénico de las RI, es decir en la señalización de las roturas de doble cadena del DNA. Este efecto se detectará mediante técnicas de inmunofluorescencia que permiten detectar la fosforilación de la histona H2AX y el reclutamiento de la proteína 53BP1, observándose al microscopio en forma de agregados dentro del núcleo celular (*foci*). La técnica de detección de *foci* radio-inducidos se considera de especial interés en casos en los que exista potencialmente un número muy elevado de personas sometidas accidentalmente a RI, así como también es potencialmente útil para determinar de forma precoz individuos radiosensibles. La posibilidad de incorporar técnicas de inmunodetección de H2AX y 53BP1 permitirá mantener nuestro laboratorio como referente internacional, así como abrir nuevos campos de investigación sobre el efecto genético de las RI. Además, nuestro laboratorio que ya ha implementado la metodología para el análisis de radiosensibilidad de líneas celulares (Borràs et al., 2015, 2016), será el primer laboratorio en España que tenga implementada esta técnica de forma rutinaria para su utilización como biomarcador de exposiciones a RI en linfocitos de sangre periférica.

La difusión de los resultados se realizará mediante la asistencia a congresos, y publicaciones en revistas internacionales.

#### 8. Evaluación equipo investigador.

Investigadores a cargo del proyecto.

Los investigadores a cargo del proyecto pertenecen a dos centros distintos, la Universidad Autónoma de Barcelona y el Hospital de la santa Creu i Sant Pau. Los CV de cada investigador se encuentran en documento adjunto.

Director del Proyecto:

Apellidos: Barquinero Estruch.

Nombre: Joan Francesc.

Titulación académica: Doctor en Ciencias Biológicas.

Categoría profesional: Profesor Agregado.

Centro: Universidad Autónoma de Barcelona.  
Experiencia: Citogenética, Biología Humana, Radiobiología, Dosimetría Biológica.  
Función asignada al proyecto: Coordinación del proyecto, puesta a punto de la Rutina MetaCyte, establecimiento de las condiciones de irradiación, elaboración de los resultados y discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de informes anuales y final, y escritura de comunicaciones científicas.  
Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 25%, que corresponde a 412,5 horas anuales (3 *person month* anuales).

Otros Investigadores:

Apellidos: Barrios Sanromá.  
Nombre: Leonardo.  
Titulación: Doctor en Ciencias Biológicas.  
Categoría profesional: Catedrático de Universidad.  
Centro: Universidad Autónoma de Barcelona.  
Experiencia: Cultivos Celulares, Citogenética, Biología Celular, Dosimetría Biológica.  
Función asignada al proyecto: Puesta a punto de la Rutina MetaCyte, elaboración de los resultados y discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual, y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de informes anuales y final, y escritura de comunicaciones científicas.  
Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 20%, que corresponde a 330 horas anuales (2,4 *person month* anuales)

Apellidos: Caballín Fernández.  
Nombre: María Rosa.  
Titulación académica: Doctor en Ciencias Biológicas.  
Categoría profesional: Catedrático de Universidad.  
Centro: Universidad Autónoma de Barcelona.  
Experiencia: Citogenética, Genética Humana, Genética del Cáncer, Dosimetría Biológica.  
Función asignada al proyecto: Discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual, y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de informes anuales y final, y escritura de comunicaciones científicas.  
Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 10%, que corresponde a 165 horas anuales (1,2 *person month* anuales).

Apellidos: Armengol Rosell.  
Nombre: Gemma.  
Titulación: Doctor en Ciencias Biológicas.  
Categoría profesional: Profesora Titular.  
Centro: Universidad Autónoma de Barcelona.  
Experiencia: Genética Humana, Genética del Cáncer, Biología Molecular.  
Función asignada al proyecto: Puesta a punto de la Rutina MetaCyte, elaboración de los resultados y discusión del estudio de la variabilidad interindividual, y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de informes anuales y final, y escritura de comunicaciones científicas.  
Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 20%, que corresponde a 330 horas anuales (2,4 *person month* anuales).

Apellidos: Puig Casado.  
Nombre: Pere.  
Titulación académica: Doctor en Matemáticas.  
Categoría profesional: Catedrático de Universidad.  
Centro: Universidad Autónoma de Barcelona.

Experiencia: Estadística Matemática, Caracterización de distribuciones, Sobredispersión, Bondad de ajuste.

Función asignada al proyecto: Elaboración de los resultados y discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual. Participación en la escritura de comunicaciones científicas.

Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 10%, que corresponde a 165 horas anuales (1,2 *person month* anuales).

Apellidos: Ribas Morales.

Nombre: Montserrat.

Titulación: Doctor en Ciencias Físicas.

Categoría profesional: Directora del Servicio de Radiofísica y Radioprotección.

Centro: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

Experiencia: Radiofísica, Dosimetría Física, Radioterapia, Radiobiología.

Función asignada al proyecto: Establecimiento de las condiciones de irradiación, irradiación de las muestras biológicas, discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual, y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de comunicaciones científicas.

Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 10%, que corresponde a 165 horas anuales (1,2 *person month* anuales).

Apellidos: Carrasco de Fez.

Nombre: Pablo.

Titulación: Doctor en Ciencias Físicas.

Categoría profesional: Facultativo senior de Radiofísica y Radioprotección.

Centro: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

Experiencia: Radiofísica, Dosimetría Física, Radioterapia, Radiobiología.

Función asignada al proyecto: Establecimiento de las condiciones de irradiación, irradiación de las muestras biológicas, discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual, y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de comunicaciones científicas.

Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 10%, que corresponde a 165 horas anuales (1,2 *person month* anuales).

Becario a cargo del proyecto:

El proyecto contempla la contratación de un becario pre-doctoral.

Función asignada al proyecto: puesta a punto de la Rutina MetaCyte, establecimiento de las condiciones de irradiación, elaboración de los resultados y discusión de las curvas dosis efecto, del estudio de la variabilidad interindividual, y de la relación entre los *foci* y las alteraciones cromosómicas. Participación en la escritura de informes anuales y final, y escritura de comunicaciones científicas.

Tiempo de dedicación al proyecto: Se dedicará un 100%, que corresponde a 1604 horas anuales (12 *person month* anuales)

#### 9. Evaluación de la entidad investigadora.

Capacidad del personal que va a realizar el programa o actividad.

La Universidad Autónoma de Barcelona cuenta con una amplia experiencia en el campo de la radiobiología. Todo ello de forma mayoritaria es fruto de distintos convenios y subvenciones con el CSN. Asimismo se han obtenido ayuda de la Unión Europea, de planes nacionales de investigación, y de organismos autonómicos. Nuestro objetivo, como investigadores ha sido siempre doble, por una parte mantener las capacidades en dosimetría biológica, y por otra realizar investigación en el campo de la radiobiología. Es por ello que a veces nuestra investigación se ha centrado en buscar nuevos métodos que permitan superar los límites de la dosimetría biológica, y otras veces ha sido una investigación más básica como puede ser el fenómeno de la respuesta adaptativa, las

variaciones interindividuales en radiosensibilidad, o la eficacia biológica relativa de los rayos X utilizados en mamografías. Fruto de este trabajo, nuestro grupo ha incorporado la radiobiología en los estudios de 2 másters, y hemos formado 10 doctores.

Muchas de las investigaciones realizadas han dado lugar a publicaciones internacionales en revistas de impacto. En el campo de la radiobiología hemos publicado un total de 85 publicaciones internacionales, hemos participado como ponentes invitados tanto en congresos nacionales como internacionales. Como consecuencia de todo este trabajo actualmente nuestro grupo cuenta con un elevado reconocimiento nacional e internacional. Participamos de manera relevante en distintas redes internacionales, y mantenemos colaboraciones científicas con otros grupos a nivel nacional e internacional en el campo de la radiobiología. También tenemos una colaboración estrecha con el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA): hemos participado en la elaboración de cursos y manuales técnicos, hemos recibido en nuestro laboratorio investigadores extranjeros para aprender determinadas técnicas de laboratorio, y hemos participado como expertos en bastantes reuniones científicas.

9.1 Colaboración anterior con el CSN: resultados y productos derivados de esta colaboración.

Nuestro grupo ha colaborado anteriormente con el CSN mediante convenios y proyectos de investigación.

La primera colaboración tenía por título «Dosimetría Biológica en personal ocupacionalmente expuesto a las radiaciones ionizantes» (1992-94). Gracias este proyecto se puso a puto un servicio de dosimetría biológica y se estudió una población ocupacionalmente expuesta a las RI. Como productos se elaboró una tesis doctoral y se realizaron comunicaciones científicas. Es de destacar que la curva de calibración dosis-efecto realizada en ese proyecto, actualmente es el modelo de curva del documento técnico sobre dosimetría biológica del OIEA.

Posteriormente y con el proyecto »Detección de anomalías cromosómicas mediante técnicas de hibridación *in situ*» (1996-98), se establecieron las bases de la dosimetría biológica retrospectiva, se estudió una población crónicamente expuesta a RI, y se evaluaron aspectos básicos sobre la interacción de las RI con el DNA y su relación con las alteraciones cromosómicas. Este proyecto también dio como resultado una tesis doctoral, y a los resultados fueron presentados en una jornada de I+D en el CSN.

Otro proyecto fruto de nuestra colaboración con el CSN fue «Estudio del efecto genético de las radiaciones ionizantes a largo plazo en un modelo *in vitro*» (1999-2002). Este estudio permitió evaluar las limitaciones de la dosimetría biológica retrospectiva, así como evaluar qué alteraciones cromosómicas se seleccionaban a lo largo de las divisiones celulares siguientes a la irradiación. El proyecto sirvió para realizar una tesis doctoral, y participar de forma muy activa en un proyecto europeo sobre la aplicación de la dosimetría biológica retrospectiva.

También gracias a un proyecto con el CSN «Evaluación citogenética de la eficacia biológica relativa de rayos X de baja energía» (2004 -07), estudiamos si los rayos X de 30kVp eran más eficientes en formar distintos tipos de alteraciones cromosómicas. Los resultados fueron objeto de dos tesis doctorales, y cabe destacar que durante las discusiones de la IRCP sobre el efecto biológico de las mamografías nuestros trabajos fueron objeto de debate.

El último convenio que tuvimos con el CSN «Detección de daño genético inducido por las radiaciones ionizantes en células de interfase. Aplicaciones en Dosimetría Biológica (2009-12), ha abordado el tema de la estimación de la dosis mediante el recuento de anomalías cromosómicas tras dosis elevadas de radiaciones ionizantes, de particular interés en accidentes de radiografía industrial en la que una parte de cuerpo haya sido altamente irradiada. En este tema hemos sido pioneros y actualmente estamos proponiendo nuevas técnicas de cultivo así como nuevos modelos matemáticos que suponen un avance claro en dosimetría biológica. El convenio dio como fruto dos tesis doctorales.

### 9.2 Colaboración con otras instituciones.

En el campo de la radioprotección y radiobiología hemos colaborado con distintas instituciones, tanto de ámbito nacional como internacional.

A través de financiación autonómica creamos una red temática de dosimetría de las radiaciones ionizantes (1997-2004) en esta red participaban investigadores de distintos departamentos de la propia universidad, de la Universidad Politécnica de Catalunya, de la Universidad de Barcelona, y del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, el objetivo de la red era promover el conocimiento en dosimetría y crear sinergias para solicitar proyectos. Es de destacar que la mayoría de los proyectos de nuestro grupo incluye participantes del hospital del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona. Asimismo y también a través de financiación autonómica formamos parte de un grupo de investigación consolidado «Estudios Citogenéticos y Moleculares de los Efectos de las Radiaciones Ionizantes y del Cáncer» (1993-hasta la actualidad), este grupo incluye principalmente investigadores de la propia universidad y del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, así como investigadores de distintos hospitales.

Sin financiación o a través de estancias de investigación nuestro grupo ha colaborado con otras instituciones, estas colaboraciones han dado como fruto distintas publicaciones científicas de carácter internacional. A nivel nacional, con el Hospital de la Fe de Valencia y más recientemente con el Instituto de Salud Global de Barcelona, y a nivel internacional con la Oficina Federal de Protección Radiológica de Alemania (BfS), el Instituto de Radioprotección y Seguridad Nuclear Francés (IRSN), de la Agencia de Protección de la Salud del Reino Unido (HPA), del Centro de Protección e Higiene de las radiaciones de Cuba (CPHR), y del Instituto Coreano de Ciencias Radiológicas y Médicas (KIRAMS). Formamos parte de una asociación de laboratorios de dosimetría biológica Europea (RENEB) y de la red de laboratorios de dosimetría biológica de la organización mundial de la salud (BioDosNet). Investigadores de nuestro grupo también han colaborado con el OIEA, ya sea recibiendo estadias de investigadores de otros centros, o bien participando como expertos en distintas misiones.

### 9.3 Participación en proyectos nacionales e internacionales.

En el campo de la radiobiología y radioprotección nuestro grupo también ha participado y/o participa en distintos proyectos nacionales e internacionales.

A nivel nacional:

- Sobre la aplicabilidad de las técnicas de FISH. «Aplicación de las técnicas de FISH para estudios de dosimetría biológica en casos de exposiciones parciales. Financiado por la DGICYT (1999-2000).
- Dosimetría biológica en una población concreta. «Dosimetría biológica en individuos potencialmente expuestos a uranio empobrecido, debido al conflicto de los Balcanes.» Financiado por el MCYT (2002-03).
- Estudio de un radioprotector utilizado en radioterapia. «Estudio del efecto protector de la amifostina sobre el daño genético inducido por la radioterapia en pacientes afectos de tumores de cabeza y cuello». Financiado por el FIS (2003-06).
- Desarrollo de laboratorios de dosimetría biológica en países en desarrollo. »Puesta a punto de un servicio de dosimetría biológica». Financiado por la AECl (2008-10).
- Evaluación de individuos potencialmente radiosensibles. «Eficacia del punto de control G2-M en la eliminación del daño genético producido en G0 y G2. Estudio en mujeres portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2.» Financiado por la Universidad Autónoma de Barcelona (2007-08).



A nivel internacional:

- Estudio sobre el efecto de las RI en células germinales. «Micronucleous test in the human-hamster system to assess radiation induced chromosomal damage in human spermatozoa». Financiado por la Comisión Europea (1993-94).
- Estudio sobre individuos expuesto a altas dosis debido al accidente de Chernóbil. «A comparative long-term follow up study of a cohort of highly irradiated subjects to improve dose assessment for past exposures by analysing changes in the yields of stable and unstable chromosomal aberrations. Financiado por la Comisión Europea (1999-2001).
- Sobre la aplicabilidad de las técnicas de FISH. «The use of FISH techniques for retrospective biological dosimetry. Financiado por la Comisión Europea (2000-2003).
- Establecimiento de una primera red europea de laboratorios de dosimetría biológica. »Multi-disciplinary biodosimetric tools to manage high scale radiological casualties (MULTIBIODOSE). Financiado por la Comisión Europea (2010-13).
- Ampliación de la red europea de laboratorios de dosimetría biológica. Realizing the European Network in Biodosimetry- RENE. Financiado por Comisión Europea (2012-15).
- Revisar aspectos dosimétricos de los accidentes de Chernóbil y Fukushima, su aplicabilidad para futuros estudios epidemiológicos, su impacto sobre la población, y sobre los medios de comunicación. OPERRA-SHAMISEN. Financiado por la Comisión Europea (2015-17).
- Detección de posibles polimorfismos genéticos asociados a mayor probabilidad de desarrollo de cáncer después de TAC pediátrico. MERIRAD. Financiado por la Comisión Europea (2017-21).

#### 10. Informes de resultados.

Los resultados que se obtengan como producto de las actividades englobadas dentro de este Acuerdo quedarán debidamente documentados. La presentación y aceptación de la documentación que se indica en este apartado será necesaria para poder proceder a los pagos sucesivos previstos en el Acuerdo, tal como se indica en la memoria económica.

Se elaborarán por parte de la UAB informes de seguimiento del Proyecto de carácter anual, en los que se dará cuenta del estado de avance del proyecto en relación con los objetivos marcados para el periodo correspondiente. Se incluirá una descripción de las actividades realizadas y el grado de consecución de los objetivos hasta la fecha del informe, así como las presentaciones, reuniones, etc. que se hayan realizado durante el periodo. La presentación y aceptación de estos informes por el CSN será necesaria para proceder al pago parcial correspondiente.

La UAB elaborará un informe final del proyecto, que se presentará al CSN con carácter previo al último pago parcial. En él se incluirá una exposición del desarrollo del proyecto y de los logros alcanzados, su comparación con los objetivos previstos y los resultados y productos que se hayan obtenido y cuya aplicación a corto, medio o largo plazo permitan prever beneficios y avances en la utilización de biomarcadores de radiosensibilidad.

## ANEXO 2

### **Memoria económica de costes del Convenio de colaboración entre el Consejo de Seguridad Nuclear y la Universidad Autónoma de Barcelona para el proyecto de I+D sobre «Detección del daño genético inicial inducido por las radiaciones ionizantes. Evaluación de su aplicabilidad como biomarcador de radiosensibilidad»**

#### 1. Presupuesto

El coste del convenio se ha calculado sobre la base de los costes que se detallan a continuación.

## 1. Costes de Personal:

Los costes de personal (Tabla 1.1) corresponden a los siguientes conceptos:

- Los recursos humanos aportados por la UAB, que se estiman en un esfuerzo de 202.562,50 euros.
- El coste del personal contratado para el proyecto, que asciende a 134.981,80 euros.
- El CSN pondrá a disposición de los trabajos relacionados con este Convenio los recursos de personal necesarios, hasta un máximo anual de 0,25 personas-año. Esta contribución en recursos humanos no tiene un equivalente económico dentro del Acuerdo.

## 1.1 Costes de personal.

Personal que participa en el proyecto	Salario bruto mensual	Seguros Sociales mensuales a cargo del empleador	Número de meses	% de dedicación al proyecto	Coste imputable al proyecto	Aportación del CSN	% de aportación sobre el coste
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E) (*)	(F)	(G) (**)
Propio de la entidad solicitante.							
Catedrático U.	5.465,08	157,17	36,00	20,00	40.480,20	0,00	0,00
Catedrático U.	5.465,08	157,17	36,00	10,00	20.240,10	0,00	0,00
Catedrático U.	5.465,08	157,17	36,00	10,00	20.240,10	0,00	0,00
Agregado	4.512,20	1.412,32	36,00	25,00	53.320,67	0,00	0,00
Titular U.	3.388,30	157,17	36,00	20,00	25.527,38	0,00	0,00
Jefe de Servicio.	3.849,81	1.204,99	36,00	10,00	18.197,28	0,00	0,00
Técnico laboratorio	2.065,50	663,03	36,00	50,00	49.113,54	24.556,77	50
<b>Total</b> .....	<b>30.211,05</b>	<b>3.909,02</b>			<b>227.119,27</b>	<b>24.556,77</b>	
Personal contratado.							
Técnico soporte Investigación.	2.322,00	745,36	36,00	100,00	110.425,03	110.425,03	100
<b>Total</b> .....					<b>337.544,31</b>	<b>134.981,80</b>	<b>39,99</b>

(\*) El coste imputable al proyecto (E) es el resultado de  $(A+B)*C*D/100$ .

(\*\*) El tanto por ciento de la ayuda sobre el coste (G) es el resultado de  $(F/E)*100$ .

Por lo tanto, el coste total correspondiente a recursos humanos asciende a 337.544,31 euros. Según los criterios de reparto del gasto que se han establecido entre el CSN y la UAB, el CSN aportará la financiación correspondiente al 50% del coste del técnico de laboratorio y al 100% del técnico de soporte a la investigación, lo que supone una aportación de 134.981,80 euros; y el resto de 202.562,51 euros, correrá por cuenta de UAB.

## 2. Viajes y dietas, actividades de divulgación:

En este apartado se incluyen los siguientes conceptos, por las cantidades que se indican en la tabla 1.2:

## 1.2 Costes de viajes y dietas

Concepto	Importe	Aportación del CSN	% de la aportación CSN sobre el coste
Participación congresos y seminarios	6.000,00	6.000,00	100
<b>Total</b> .....		<b>6.000,00</b>	<b>100</b>

La cantidad de 6.000 Euros será aportada por el CSN.

### 3. Gastos en material.

Los gastos previstos en material, tanto inventariable como fungible, necesario para el proyecto, son los que se especifican a continuación (tablas 1.3a, 1.3b, y 1.3c).

#### 1.3a Gastos en material inventariable – amortización de equipos:

Equipos y material Invetariable de nueva adquisición	Valor de la adquisición (A)	Vida útil (años) (B)	% de uso en el proyecto C (*)	Coste imputable al proyecto (D) (**)	Aportación del CSN (E)	% de la aportación CSN sobre el coste
Cámara de flujo laminar.	9.000,00	10,00	40,00	1.080,00	0,00	0,00
Incubadores CO <sub>2</sub> .	6.000,00	10,00	30,00	540,00	0,00	0,00
Baños, estufas, agitadores.	15.000,00	10,00	30,00	1.350,00	0,00	0,00
Microscopio automatizado, con software Metacyte.	117.700,00	10,00	100,00	35.310,00	7.000,00	19,82
Cytospin.	12.000,00	10,00	100,00	3.600,00	3.600,00	100,00
Subtotal .....	159.700,00			41.880,00	10.600,00	25,31

(\*) Cuando los equipos vayan a emplearse únicamente en el proyecto se pondrá 100. En cualquier otro caso, el % que se estime procedente, según el uso previsto de los equipos.

(\*\*) El coste imputable al proyecto (D) es el resultado de  $((A)/(B))*n^{\circ}$  años dedicado al proyecto\*(C)/100.

#### 1.3b Gastos en material fungible:

Concepto	Coste imputable al proyecto	Aportación del CSN	% de la aportación CSN sobre el coste
Anticuerpos y reactivos.	15.000,00	15.000,00	100
Irradiación fuente de cobalto ubicada en UAB.	1.000,00	1.000,00	100
Irradiación fuente de cobalto ubicada en Sant Pau.	3.000,00	3.000,00	100
Subtotal .....	19.000,00	19.000,00	100

#### 1.3c Resumen gastos material:

Concepto	Importe	Coste imputable al proyecto	Aportación del CSN	% de la aportación CSN sobre el coste
Gastos en material inventariable (amortización).	159.700,00	41.880,00	10.600,00	
Gastos en material fungible.	19.000,00	19.000,00	19.000,00	
Total .....	178.700,00	60.880,00	29.600,00	48,62

Por lo tanto, el coste total previsto del material necesario para el proyecto es de 178.700,00 Euros. El CSN contribuirá a la financiación de este material aportando un total de 74.944,53 Euros, y el resto 103.755,47 será aportado por la UAB.

### 4. Canon universitario.

Considerando que el total a aportar por el CSN asciende a 170.581,80 euros, el canon que aplica la Universidad sobre este importe es de 45.344,53 euros.

## 5. Costes totales.

## Resumen total gastos:

Concepto	Subtotal (€)	Aportación de UAB (€)	Aportación del CSN (€)
Costes de personal.	337.544,31	202.562,51	134.981,80
Viajes y dietas.	6.000,00	0,00	6.000,00
Materiales.	60.880,00	31.280,00	29.600,00
Subtotal . . . . .	404.424,31	233.842,51	170.581,80
Canon Universitario.	45.344,53	0,00	45.344,54
Total proyecto . . . . .	449.768,84	233.842,51 (52%)	215.926,34 (48%)

Sobre la base de las cantidades que se han pormenorizado en los apartados anteriores, se obtienen unos gastos totales para este convenio de cuatrocientos cuarenta y nueve mil setecientos sesenta y ocho euros y ochenta y tres céntimos (449.768,84). El CSN aportará la cantidad de doscientos quince mil novecientos veintiséis euros con treinta y tres céntimos (215.926,33) euros, corriendo el monto restante de 233.842,51 a cuenta de UAB.

## 2. Distribución

Los costes se distribuirán a lo largo de cuatro ejercicios presupuestarios, en la forma que se indica en la siguiente tabla:

Año	Importe - Euros
2018 . . . . .	20.000,00
2019 . . . . .	70.533,48
2020 . . . . .	62.696,43
2021 (1.º pago) . . . . .	42.696,43
2021 (2.º pago). . . . .	20.000,00
Total . . . . .	215.926,34

## 3. Forma de pago

El calendario de pagos del proyecto es el que se describe a continuación:

- Un primer pago por importe de 20.000 euros a efectuar durante 2018, un mes después de la firma del Convenio.
- Un segundo pago de 70.533,48 euros a efectuar durante 2019, a los 4 meses de la firma del Convenio.
- Un tercer pago de 62.696,43 euros en 2020, un año después del segundo pago.
- Un cuarto pago de 42.696,43 en 2021, transcurridos dos años desde el segundo pago.
- Un quinto y último pago, en 2021, transcurridos tres años desde la firma del convenio, a la conclusión de los trabajos.

Cada uno de los pagos se realizará previa entrega de la documentación (informes de progreso, informes específicos, artículos, comunicaciones,...) que refleje los trabajos realizados en el periodo a que corresponde el pago, y que se ha descrito con más detalle en la memoria técnica. En lo que se refiere al último pago, se deberá presentar con un mes de antelación a la fecha prevista de pago un informe que resuma las conclusiones de la totalidad de los trabajos realizados dentro del este Convenio, haciendo referencia a toda la documentación generada a lo largo del mismo.

La aportación del CSN se obtiene a través de la aplicación presupuestaria con código 20.302.424M.640.