

CAPÍTULO II

Metodología de irradiación y dosis

1.- Sistema de irradiación

1.1.- Irradiación con dosis altas

1.2.- Irradiación con dosis bajas

2.- Cadena de espectrometría γ

2.1.- Descripción

2.2.- Calibración y puesta a punto

2.3.- Determinación de actividades

2.3.1.- Cálculo de actividad

2.3.2.- Errores en la medida de actividad

3.- Dosimetría

3.1.- Microdosimetría α

3.2.- Simulación Montecarlo

1.- Sistema de irradiación

1.1.- Irradiación con dosis altas

Los sistemas de irradiación por partículas alfa empleados en experimentos radiobiológicos son diversos y habitualmente se usan para producir dosis intermedias y altas en cultivos celulares. Los más utilizados son: fuentes alfa externas, aceleradores de partículas, y disolución de partículas radiactivas en el medio de cultivo celular.

En la irradiación con fuentes radiactivas externas al cultivo las placas de crecimiento celular se colocan sobre una superficie que contenga emisores alfa (^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{238}Pu)[JOH97]. La interacción entre las células y la radiación se produce tras el paso de las partículas alfa a través de la base de la placa. Con este sistema es posible controlar el número de interacciones sufridas por cada célula colocando un material detector de trazas en dicha base y correlacionando microscópicamente las posiciones celulares con las trazas encontradas. Si no se conoce con precisión el coeficiente de atenuación de las partículas alfa en los materiales que forman la placa y el detector, no es posible determinar la energía final que se deposita sobre las células. En este sistema, la dosimetría es imprecisa en cultivos celulares en suspensión, y por ello se emplea sobre células fijadas a la base de la placa. Por ejemplo, para irradiar células hematopoyéticas colocadas sobre una capa fina de ^{238}Pu [KAD92] o sobre dispositivos de varias muestras girando sobre un disco de ^{238}Pu [LOR93] o ^{241}Am [ZAR98]

Otro sistema de irradiación utilizado son los aceleradores de partículas. Los sistemas aceleradores actuales permiten un control preciso tanto del número de partículas que llegan al cultivo, como de la dirección de las mismas. A partir de una fuente radiactiva (alfa o beta) las partículas cargadas emitidas son orientadas por campos electromagnéticos, y el tamaño del haz conseguido es controlado mediante rendijas de apertura variable [SOY00]. Las células se posicionan sobre la placa de cultivo individualmente, y ésta se coloca a la salida del haz. Las partículas pueden ser lanzadas con una precisión de micras, lo cual permite hacerlas chocar con elementos determinados de la célula como el núcleo o el citoplasma [WU99]. La radiación que llega al cultivo se detecta por medio de una película centelleadora. Este detector se conecta a una persiana que se cierra cuando se ha registrado un determinado número de

impulsos. De esta forma, es posible prefijar el número de partículas que llegan a las células, y conocer el número de interacciones que se producen [NEL96, HEI97]. Se puede controlar también la energía media de las partículas en el haz [MIL96], y de nuevo, determinar la energía final recibida por las células teniendo en cuenta la absorción producida por la película centelleadora y la base de la placa de cultivo. Al igual que las fuentes alfa externas, los aceleradores no son útiles para irradiar cultivos celulares en suspensión, por la dificultad que entraña correlacionar los puntos de salida de las partículas con las posiciones de cada célula.

Por último, existen también métodos de irradiación que se basan en la introducción de elementos radiactivos en el medio de cultivo celular. Conviene que los isótopos utilizados tengan una vida media relativamente corta para conseguir la irradiación deseada para la duración del experimento. Los elementos más utilizados son los procedentes de las series radiactivas naturales, como el ^{212}Bi obtenido por separación radioquímica de fuentes de ^{224}Ra [ATC88, MET92], o los descendientes del ^{222}Rn [JOS91]. Debido al carácter gaseoso de éste último, se emplean dispositivos que lo introducen en el medio de cultivo por borboteo [CHA98]. Partiendo de una fuente de ^{226}Ra , el gas radón que se genera es filtrado para después entrar en el medio a través de burbujas. La cantidad administrada de dicho elemento al medio de cultivo se controla conociendo la actividad de la fuente y la tasa de flujo empleada. Este método es adecuado para la irradiación de células en suspensión, pero debido a la agitación descontrolada del medio por las burbujas, no resulta válido para líneas celulares que crezcan adheridas al fondo de la placa de cultivo.

1.2.- Irradiación con dosis bajas

Con el sistema de irradiación que se presentará a continuación hemos realizado experimentos in vitro con bajas dosis, moderadamente superiores a los promedios anuales recibidos por personas debido a fuentes naturales de radiación. Este tipo de irradiación producida en el hombre puede clasificarse en dos bloques, según la procedencia de las mismas. Estos son la radiación de origen cósmico y la radiación de origen terrestre.

La radiación cósmica proviene del espacio exterior y está compuesta principalmente por radiación gamma, protones y neutrones. Al atravesar las capas altas de la atmósfera la intensidad de esta radiación disminuye proporcionalmente al espesor de aire atravesado, llegando finalmente a las personas. Al nivel del mar, la dosis promedio que produce por irradiación externa es de aproximadamente 0.30 mSv/año [QUI93]. La interacción de la radiación cósmica con los gases atmosféricos provoca reacciones nucleares en las que se forman isótopos radiactivos como el tritio ^3H y el carbono-14 ^{14}C . Estos isótopos se distribuyen en la biosfera y producen una dosis promedio por irradiación interna de unos 0.06 mSv/año [BOU88, GRE91]

La segunda y principal causa de irradiación natural en el hombre es la producida por los isótopos radiactivos presentes en la corteza terrestre. En las rocas y suelos de dicha corteza existen en diferentes concentraciones según el tipo de roca, elementos de las familias radiactivas naturales del Uranio (^{238}U), Torio (^{232}Th) y Actinio (^{235}U), además de otros elementos de vida larga entre los cuales el más importante es el ^{40}K . Todos ellos se encuentran en los suelos y en algunos materiales de construcción que forman las viviendas, y producen en las personas una dosis de radiación externa que en promedio es de 0.40 mSv/año [QUI91b]. También, los mismos elementos han pasado en parte al interior del cuerpo y producen en él una dosis de radiación interna de 0.36 mSv/año [UNS00b]

A esto cabe añadir que las series radiactivas del uranio y del torio (Figs. 2.1, 2.2) poseen elementos gaseosos como el radón (^{222}Rn) y el torón (^{220}Rn). En virtud de la composición geológica de los suelos, existen regiones, denominadas de alto nivel de radiación natural, en las que sus habitantes reciben dosis debidas al gas que son moderadamente superiores a los valores promedio citados [QUI89]. Igualmente, en algunos recintos cerrados como los balnearios radiactivos se alcanzan concentraciones de radón elevadas [QUI91], recibiendo tanto los pacientes como el personal trabajados dosis elevadas. En ambos casos, los efectos que se observan no parecen ser lineales, es decir, no parecen extrapolables de los que se producen a dosis mayores [JAW95, KON93, SOT91, SOT95].

Nuclide	Historical Name	Half-life	Major Radiation Energies (MeV) and Intensities ^b					
			α		β		γ	
			MeV	%	MeV	%	MeV	%
$^{238}_{92}\text{U}$	Uranium I	4.468×10^9 y	4.15	22.9			.0496	.07
$^{234}_{90}\text{Th}$	Uranium X ₁	24.1 d	4.20	76.8				
$^{234\text{m}}_{91}\text{Pa}$	Uranium X ₂	1.17 m			.076	2.7	.0633	3.8
					.095	6.2	.0924	2.7
					.096	18.6	.0928	2.7
					.1886	72.5	.1128	.24
					2.28	98.6	.766	.207
							1.001	.59
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> 99.87% 0.13% </div> $^{234}_{91}\text{Pa}$	Uranium Z	6.7 h			22 β s		.132	19.7
$^{234}_{91}\text{Pa}\Gamma$					E Avg = 0.224		.570	10.7
					E max = 1.26		.883	11.8
							.926	10.9
							.946	12
$^{234}_{92}\text{U}$	Uranium II	244,500 y	4.72	27.4			.053	.12
			4.77	72.3			.121	.04
$^{230}_{90}\text{Th}$	Ionium	7.7×10^4 y	4.621	23.4			.0677	.37
			4.688	76.2			.142	.07
$^{226}_{88}\text{Ra}$	Radium	1600 ± 7 y	4.60	5.55			.144	.045
			4.78	94.4			.186	3.28
$^{222}_{86}\text{Rn}$	Emanation Radon (Rn)	3.823 d	5.49	99.9			.510	.078
$^{218}_{84}\text{Po}$	Radium A	3.05 m	6.00	-100	.33	.02	.837	.0011
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> 99.98% 0.02% </div> $^{214}_{82}\text{Pb}$	Radium B	26.8 m			.67	48	.2419	7.5
					.73	42.5	.295	19.2
					1.03	6.3	.352	37.1
							.786	1.1
$^{218}_{85}\text{At}$	Astatine	2 s	6.66	6.4			.053	6.6
			6.7	89.9				
			6.757	3.6				
$^{214}_{83}\text{Bi}$	Radium C	19.9 m	5.45	.012	1.42	8.3	.609	46.1
			5.51	.008	1.505	17.6	1.12	15.0
					1.54	17.9	1.765	15.9
					3.27	17.7	2.204	5.0
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> 99.979% 0.021% </div> $^{214}_{84}\text{Po}$	Radium C'	164 μ s	7.687	100			.7997	.010
$^{210}_{81}\text{Tl}$	Radium C''	1.3 m			1.32	25	.2918	79.1
					1.87	56	.7997	99
					2.34	19	.860	6.9
							1.110	6.9
							1.21	17
							1.310	21
							1.410	4.9
							2.010	6.9
							2.090	4.9
$^{210}_{82}\text{Pb}$	Radium D	22.3 y	3.72	.000002	.016	80	.0465	4
					.063	20		

Fig. 2.1: Serie radiactiva del Uranio

Nuclide	Historical Name	Half-life	Major Radiation Energies (MeV) and Intensities ^b					
			α		β		γ	
			MeV	%	MeV	%	MeV	%
$^{232}_{90}\text{Th}$	Thorium	1.405×10^{10} y	3.83	0.2			.059	.19
↓			3.95	23			.126	.04
↓			4.01	76.8				
$^{228}_{88}\text{Ra}$	Mesothorium I	5.75 y			.0389	100	.0067	6×10^{-5}
↓								
$^{228}_{89}\text{Ac}$	Mesothorium II	6.13 h			.983	7	.338	11.4
↓					1.014	6.6	.911	27.7
↓					1.115	3.4	.969	16.6
↓					1.17	32	1.588	3.5
↓					1.74	12		
↓					2.08	8		
					(+33 more β s)			
$^{228}_{90}\text{Th}$	Radiothorium	1.913 y	5.34	26.7			0.084	1.19
↓			5.42	72.4			.132	.11
↓							.166	.08
↓							.216	.27
$^{224}_{88}\text{Ra}$	Thorium X	3.66 d	5.45	4.9			.241	3.9
↓			5.686	95.1				
$^{220}_{86}\text{Rn}$	Emanation Thoron (Tn)	55.6 s	6.288	99.9			.55	.07
↓								
$^{216}_{84}\text{Po}$	Thorium A	.15 s	6.78	100			.128	.002
↓								
$^{212}_{82}\text{Pb}$	Thorium B	10.64 h			.158	5.2	.239	44.6
↓					.334	85.1	.300	3.4
↓					.573	9.9		
$^{212}_{83}\text{Bi}$	Thorium C	60.55 m	6.05	25	1.59	8	.040	1.0
↓			6.09	9.6	2.246	48.4	.727	11.8
↓							1.620	2.75
↓								
64.07% ↓								
$^{212}_{84}\text{Po}$	Thorium C'	305 ns	8.785	100				
↓								
35.93% ↓								
$^{208}_{81}\text{Tl}$	Thorium C''	3.07 m			1.28	25	.277	6.8
↓					1.52	21	.5108	21.6
↓					1.80	50	.583	85.8
↓							.860	12
↓							2.614	100
$^{208}_{82}\text{Pb}$	Thorium D	Stable						

Fig. 2.2: Serie radiactiva del Torio

El sistema de irradiación utilizado en nuestro trabajo se basa en la disolución de ^{222}Rn en el medio de cultivo, introducidos por difusión, y no por borboteo. Consiste en una fuente de ^{226}Ra que se conecta directamente a los tubos de ensayo que contienen el medio de cultivo celular como se muestra en la Figura 2.3. La fuente es una disolución de RaCl_2 en 0.1 N de HCl con una concentración de ^{226}Ra de $10.28 \mu\text{Ci}/\text{gr}$, sin radioimpurezas aparte de los descendientes, contenida en una ampolla de 10 ml y rodeada de un blindaje de Pb . De ella sale un tubo de plástico a través del cual el radón generado difunde hasta llegar al recipiente de 50 ml conectado al final, que contiene el medio de cultivo. En su extremo, el tubo posee una tapa adaptada a dicho recipiente que garantiza la hermeticidad de la unión, evitando pérdidas en el proceso de difusión del gas desde la fuente hasta el medio de cultivo. Asimismo, el tubo de conexión tiene una llave de paso que corta el flujo de radón cuando no se está utilizando.

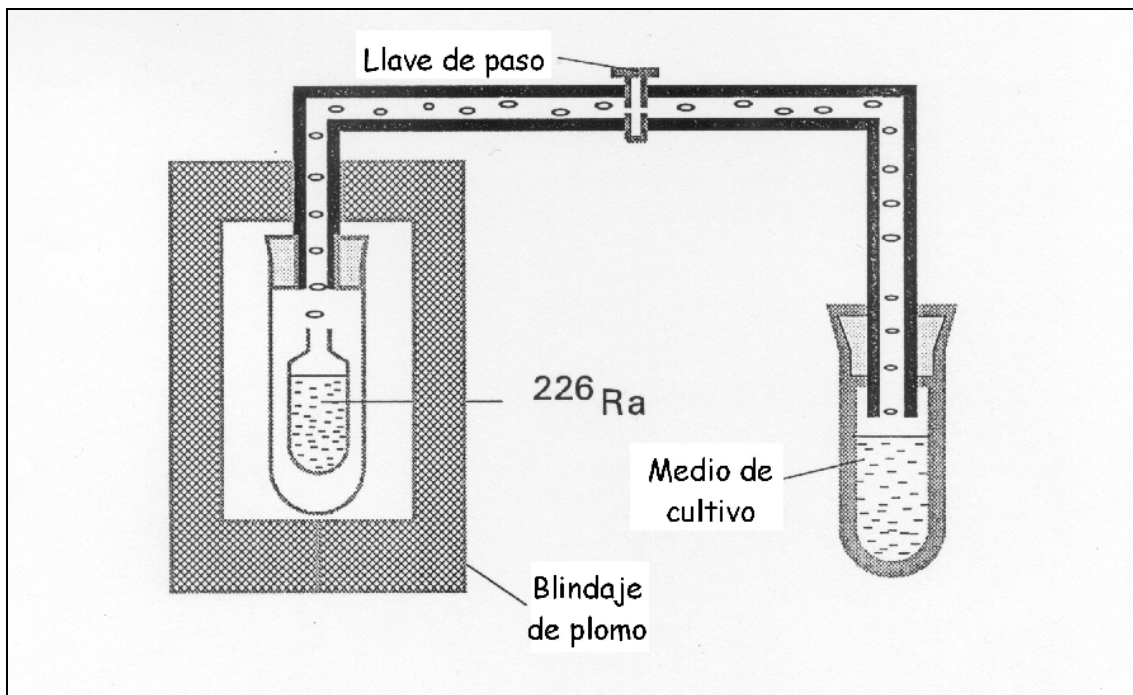


Fig 2.3: Dispositivo experimental para la disolución de radón en el medio de cultivo celular

La disolución en el medio que se pretende irradiar se produce una vez que el radón generado en la fuente difunde hasta entrar en contacto con el mismo. Una vez en contacto, el radón tiende a disolverse en el medio hasta alcanzar la saturación que se produce cuando la diferencia de presiones parciales del gas en el aire y en el medio impide que siga pasando gas de una fase a otra.

Una vez expuesto el medio de cultivo durante un intervalo de tiempo, el tubo se cierra y la cantidad de radón disuelta en él se mide utilizando una cadena de espectrometría gamma . Para llevar a cabo esta medida, se esperan tres horas hasta que se alcanza el equilibrio radiactivo entre el radón y sus descendientes de vida corta. Realizando sucesivas medidas de las cuentas registradas bajo los fotopicos de 352 keV (^{214}Pb) y 662 keV (^{214}Bi) se comprueba un equilibrio progresivo entre el radón y sus descendientes, alcanzándose una meseta después de tres horas. La cadena consiste en un detector de semiconductor GeHp (Canberra) protegido por un castillete de plomo, unido a un dedo frío refrigerado con nitrógeno líquido, y conectado a un analizador multicanal. Utilizando una muestra calibrada con ^{226}Ra de actividad conocida e igual geometría que los recipientes con el medio irradiado, la actividad de radón contenida en el medio de cultivo se calcula a partir de los contajes registrados bajo los fotopicos del ^{214}Pb y el ^{214}Bi . Esta muestra calibrada consiste en una disolución de radio en equilibrio radiactivo con sus descendientes, con una concentración conocida de 10^5 Bq/l. La muestra está contenida en un tubo de 30 cm^3 con la misma geometría que la de los empleados para la disolución de radón. De esta forma puede compararse el número de cuentas registradas bajo los fotopicos del ^{214}Pb y el ^{214}Bi debido a la muestra calibrada, con el obtenido en la muestra con radón disuelto.

Como se verá a continuación, en estas condiciones, la actividad de radón disuelta vendrá dada por:

$$A = A_{calib} \cdot \frac{c}{c_{calib}}$$

donde: A_{calib} es la actividad de la muestra calibrada (3000 Bq)

c_{calib} conteo neto (cuentas totales menos fondo) bajo los fotopicos de 352 y 612 keV debido a la muestra calibrada
c conteo neto bajo los fotopicos debido a la muestra con radón disuelto.

La concentración final de radón en el medio depende del tiempo de exposición a la fuente y de la tasa de flujo del gas a través del tubo de conexión (prácticamente constante en las condiciones empleadas). Las concentraciones típicas usadas en los experimentos en el rango de 10^5 - 10^6 Bq/l se alcanzan al cabo de 2 horas de exposición a la fuente. La concentración máxima utilizada de radón disuelto en el medio con este dispositivo hasta llegar a la saturación es de 10^7 Bq/l, alcanzada tras 24 horas de exposición a la fuente.

Este sistema posee ventajas frente a otros utilizados habitualmente en experimentos radiobiológicos. Cabe destacar su sencillez y su utilidad para irradiar igualmente cultivos celulares en suspensión como aquellos en los que las células crecen adheridas al fondo de las placas. Asimismo, los tiempos de espera para la medida de actividad y posterior cultivo de células permiten una distribución homogénea de emisores en el medio.

2.- Cadena de espectrometría gamma

2.1 Descripción

La cadena de espectrometría gamma, de alta resolución y bajo fondo, empleada para medir concentraciones de radón y poblaciones de descendientes consta de dos partes, esquematizadas en la Figura 2.4:

- Módulo detector y su protección
- Sistema de amplificación y analizador multicanal

Módulo detector (Germanio)

La detección de radiación ionizante mediante semiconductores se basa en el principio de que estos, al ser atravesados por aquella crean un gran número de pares electrón-hueco. Un hueco consiste en la falta de un electrón en los enlaces interatómicos de la estructura del cristal, que puede desplazarse por el volumen de éste y cuyas propiedades pueden asimilarse a las de un ión positivo. Mediante la recogida de estos portadores de carga puede detectarse el paso de la radiación y en determinadas condiciones medir su energía.

En nuestro caso, el sistema espectrométrico básico está constituido por un detector de semiconductor coaxial de germanio intrínseco marca Canberra, modelo GR 2020-7500 SL, en configuración vertical, con su correspondiente criostato para Nitrógeno líquido, alojado en el interior de un blindaje de hierro de baja actividad. En este detector, a muy bajas temperaturas, los electrones de valencia están localizados en los niveles de energía correspondientes a la banda de valencia, permaneciendo desocupada la banda de conducción. Pero al elevarse la temperatura y aumentar las vibraciones de la red, algunos electrones de valencia pasarán a la banda de conducción, dejando así huecos en la primera. Este proceso sólo es posible si la diferencia de energía entre la banda de conducción y la de valencia, es decir, la anchura de banda prohibida, es del orden de 1 eV o menor, condición que se cumple para el Germanio, que presenta una banda prohibida de 0.67 eV [KIT76].

El detector es un diodo de germanio, de estructura P-I-N, es decir, con una zona de germanio intrínseco entre otras dos de tipos p y n, respectivamente [CAN83] y [TAN70]. Así, los electrones libres de la región tipo n tienden a difundirse en la región tipo p, haciéndolo los huecos en sentido contrario. Como consecuencia de ello, se establece una barrera de potencial entre ambas regiones, lo cual se opone al trasvase de unos y otros portadores a través de la zona de unión. Debido a este proceso se origina una zona vacía de portadores en la que se dan las condiciones apropiadas para la detección de la radiación que pueda interactuar con la misma [TAN70].

Tras el paso de radiación, se produce un número de pares electrón-hueco, que resulta ser proporcional a la energía depositada por la radiación, de forma que la medida de la carga liberada permite detectar la presencia de la radiación e identificar su energía, siempre y cuando ésta haya depositado completamente toda su energía en el volumen útil de detección. Para incrementar la amplitud de la barrera de potencial en la zona de unión se aplica externamente una polarización inversa, aumentando de esta forma la anchura de la zona vacía de portadores. Además, para evitar que la agitación térmica en el interior del cristal de germanio impida el buen funcionamiento del detector, éste va montado sobre un criostato compuesto por una cámara de vacío acoplada a un recipiente dewar (de doble pared, aislado al vacío), de 30 litro de capacidad, que contiene nitrógeno líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, manteniendo refrigerado el detector.

El detector se aloja en el interior de un blindaje de hierro de baja actividad, de 15 cm de espesor, con el fin de apantallar de la radiación de fondo existente en el laboratorio. En estas condiciones experimentales, el detector, de geometría coaxial, posee una eficiencia relativa del 20 % para el pico de 1332 keV del ^{60}Co , y una resolución de 2 keV para el pico de 1332 keV y de 1 keV para el de 122 keV, presentando una relación Compton-fotopico de 1:49.

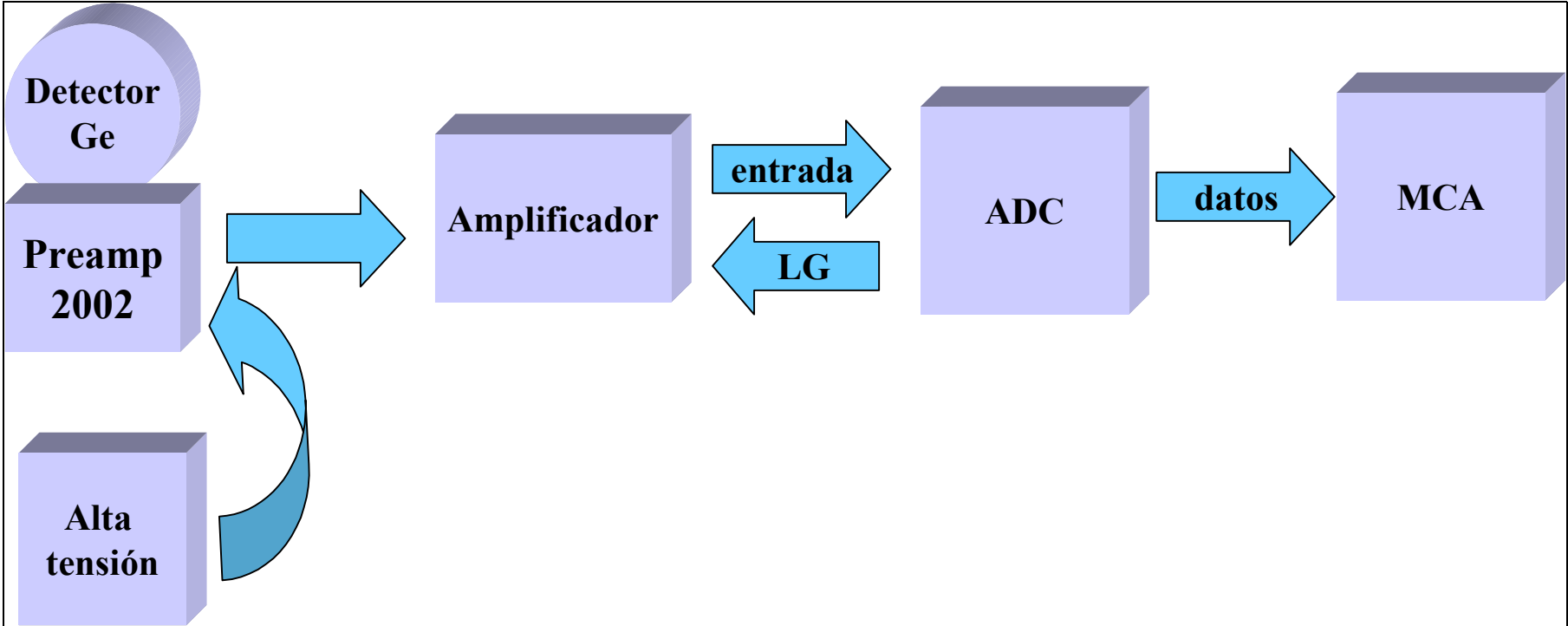


Fig. 2.4: Detector de Ge-HP y cadena electrónica asociada

Cadena electrónica asociada

Como ya se ha indicado, con el fin de ampliar en lo posible la zona de ausencia de portadores (zona de deserción) de germanio, es necesario aplicar sobre éste una tensión de polarización inversa. Esta tensión es suministrada por una fuente de alta tensión Canberra 3106D. Esta fuente proporciona un voltaje de salida regulable de 0 a ± 5000 V, requiriendo una alimentación de 24 V. La estabilidad de la misma es inferior al $\pm 2\%$ cada 8 horas, en condiciones constantes de voltaje de entrada y temperatura ambiente [CAN83b].

La interacción de la radiación gamma con el cristal de Ge produce una carga de ionización, que es recogida por un preamplificador y posteriormente amplificada de manera que el impulso eléctrico resultante pueda ser interpretado de forma adecuada por el analizador multicanal.

El preamplificador, modelo Canberra 2002SL, va incorporado directamente sobre la base del detector. La función del mismo es convertir la carga de ionización producida en el detector por cada interacción gamma en un pulso de voltaje de salida cuya amplitud sea proporcional a la carga total depositada. Este proceso se realiza en dos etapas bien definidas. En la primera, el preamplificador se comporta como un integrador operacional que da lugar al impulso de voltaje, y en la segunda como un diferenciador de ganancia regulable [CAN83c].

El preamplificador proporciona como salida un pulso unipolar que decae a los $50 \mu\text{s}$ ($\pm 10\%$) siendo el rango de dicho impulso de 0 a ± 75 mV (DC) o de 0 a ± 300 mV (DC) según sus condiciones de ganancia. Sin embargo, dado que el impulso de voltaje suministrado por el preamplificador resulta excesivamente pequeño para ser tratado por el analizador multicanal, se hace necesario aumentar los pulsos de voltaje suministrados por el preamplificador en pulsos de hasta + 10 V, capaces de ser registrados por el analizador multicanal [CAN83d].

Analizador multicanal

El analizador multicanal, marca Accuspec/A, realiza el tratamiento y clasificación de los pulsos de voltaje del amplificador, pudiendo trabajar de dos modos distintos: PHA (análisis de altura de pulso) y MCS (análisis de escala multicanal).

En el primer caso, el analizador clasifica los impulsos de voltaje según su amplitud, es decir, según la carga acumulada en cada interacción gamma, en diferentes canales, dando lugar a un histograma en el que se representa la frecuencia de los sucesos gamma detectados en función de la amplitud de los pulsos. En el segundo modo de operación, el analizador da lugar a un histograma que presenta el número de sucesos gamma detectados en función del tiempo [CAN90].

Para el registro de espectros se ha empleado el analizador en el modo PHA que permite la identificación de los emisores que originan la radiación gamma detectada, una vez efectuado el correspondiente calibrado en energía de la cadena de espectrometría.

Fundamentalmente, el analizador multicanal consta de un controlador maestro y cinco secciones, de las que cabe destacar las correspondientes a la memoria y al procesamiento de la señal.

El controlador maestro es un microprocesador con un programa permanente en memoria, que coordina las funciones del analizador multicanal. Entre las funciones que éste puede realizar destacan las siguientes:

- Operaciones estándar de cálculo: integral, area neta, identificación del centro del fotopico y la anchura del mismo, calibrado en energía, búsqueda automática de fotopicos, y ejecución de tareas preprogramadas.

- Representación de espectros en modo lineal y logarítmico

- Control de la entrada y salida de datos desde o hacia dispositivos periféricos

- Adquisición de datos (modos PHA y MCS)

- Gestión de espectros: transferencia de los mismos de una zona a otra de memoria, solapamiento de espectros, marcaje de regiones de interés, etc...

La memoria del analizador multicanal se compone de una ROM (memoria sólo útil para lectura), que contiene las instrucciones del microprocesador, y de una RAM (memoria de acceso aleatorio) donde se almacenan las instrucciones del operador y los datos adquiridos desde el detector. La memoria RAM es alimentada por una batería que permite mantener los datos y los parámetros, aún cuando se haya desconectado el equipo. Con el fin de inutilizar los canales inferiores del espectro, en los cuales se sitúan señales parásitas de baja amplitud y el ruido generado por la cadena electrónica, el analizador dispone de un discriminador de bajo nivel (LLD).

Por último, el procesamiento de las señales que llegan al analizador procedentes del detector de Ge, vía preamplificador y amplificador, es realizado por un convertidor analógico digital (ADC). Mediante el control de ganancia de este ADC, es posible clasificar los pulsos de voltaje en 1024, 2048, 4096 y 8192 canales respectivamente, pudiendo expandirse una determinada zona del espectro desde el canal cero en adelante.

2.2.- Calibración y puesta a punto

La preparación de fuentes gamma de actividad conocida es absolutamente necesaria para la calibración en energía y eficiencias de la cadena de espectrometría gamma descrita. Sin embargo, ésta exige tener en cuenta varios factores. El más importante es la necesidad de que las condiciones geométricas de medida, forma y dimensiones de las fuentes preparadas y distancia fuente-detector, deben ser rigurosamente idénticas para el patrón de calibrado y para las muestras cuya actividad se desea conocer. De esta forma, se pretende evitar que las modificaciones en el ángulo sólido sustentado entre la fuente y el detector puedan afectar al proceso de calibración seguido. Además, el sustrato sobre el que se prepara el patrón debe ser similar, en cuanto a densidad y homogeneidad, al material objeto de análisis para evitar, en lo posible, la incidencia de las diferencias de autoabsorción en los resultados de las

medidas. Por último, la naturaleza del soporte de la fuente, así como los materiales colocados debajo o próximos al detector, deben ser los mismos para la medida del patrón y de la muestra, con el fin de no modificar las condiciones de difusión y retrodifusión.

En las condiciones indicadas, cuando las dos fuentes, patrón y muestra, tienen idéntica masa y están medidas en las mismas condiciones experimentales, para cada energía puede expresarse que:

$$A = A_p \cdot \left(\frac{R}{R_p} \right) \quad (2.1)$$

donde A y A_p son las actividades de la muestra y el patrón respectivamente, y R y R_p las correspondientes tasas netas de recuentos para ambos

Calibración en energía del detector

La calibración en energía del detector de Ge se realiza mediante la determinación, expresada en número de canal, de las posiciones de los fotopicos producidos por emisiones gamma de energía conocida.

El analizador multicanal ACCUSPEC/A posee una serie de instrucciones programadas, entre las que se encuentra una opción que efectúa un calibrado en energía del detector mediante el ajuste lineal a una recta de regresión del tipo:

$$E = n + mC \quad (2.2)$$

donde E es la energía de los fotones gamma, C el número de canal correspondiente a la posición del fotopico de dicha energía, y n y m los coeficientes que resultan del ajuste lineal.

Esta relación debe mantenerse lineal en todos los canales. Para comprobar esta linealidad se utilizaron patrones de ¹⁵²Eu con fotopicos de 121.8; 244.7; 344.3; 779;

964.1; 1112.1 y 1408 keV, y de ^{226}Ra con fotopicos de 609 y 1760 keV. La función que relaciona la energía del pico con el canal en que aparece se corresponde con la recta:

$$E(\text{keV}) = - 88.0084 + 3.1389 \text{ canal} \quad (2.3)$$

Con un coeficiente de correlación $R = 0.99$ que confirma la existencia de linealidad en el rango de energías utilizadas en las mediadas a realizar.

Calibrado en eficiencias

La calibración en eficiencias del detector resulta necesaria para proceder a las determinaciones cuantitativas. La eficiencia del detector para una determinada energía se define como la relación entre el número de desintegraciones producidas en una fuente patrón de actividad conocida, y los fotones que son registrados en el fotopico correspondiente. Esta relación entre fotones emitidos y detectados es función de las dimensiones y del tipo de detector utilizado, de la geometría de la fuente y de su disposición con respecto al detector:

$$Ef = \frac{N(E_i)}{D(E_i)} \quad (2.4)$$

donde $N(E_i)$ y $D(E_i)$ son, respectivamente, las cuentas netas registradas bajo el fotopico y las desintegraciones de energía E_i procedentes de las fuente.

Para la determinación experimental de la eficiencia absoluta de detección bajo el fotopico de interés en las medidas, se necesita disponer de fuentes de radiación gamma en ese intervalo de energía, y cuya actividad sea conocida con precisión. Como se ha mencionado antes, también es conveniente que esta actividad sea superior a la de las muestras que posteriormente se van a analizar.

El patrón utilizado en la calibración se ha preparado a partir de una solución de ^{226}Ra proporcionada por el CIEMAT, con una actividad certificada de 19.9 Bq/l, preparada en forma de disolución en agua destilada y desionizada. Para preparar el patrón, se tomó 27 cm³ de la disolución de radio original, y se añadió 3 cm³ de agua

destilada. Una vez trasvasada al tubo de 30 cm³ de geometría igual a las muestras a analizar, la actividad del patrón resultó ser de 10⁵ Bq/l.

La utilización de esta disolución como fuente patrón calibrada requiere que transcurra un tiempo hasta que se alcance el equilibrio entre el ²²⁶Ra y el ²²²Rn. El cálculo del tiempo de espera necesario se establece a partir de las ecuaciones de Bateman y conociendo las constantes de desintegración de ambos elementos.

Usando subíndices 1 y 2 para el ²²⁶Ra y el ²²²Rn, y según la ley de desintegración, el número de átomos de radio en el instante t viene dado por:

$$N_1(t) = N_1(0) \cdot e^{-\lambda_1 t} \quad (2.5)$$

Para el radón:

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_1 N_1 - \lambda_2 N_2 \quad (2.6)$$

donde el primer término indica la tasa de crecimiento del descendiente. Sustituyendo $N_1(t)$ en esta ecuación, y resolviendo se obtiene:

$$N_2(t) = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot N_1(0) [e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}] + N_2(0) e^{-\lambda_2 t} \quad (2.7)$$

donde los dos términos dan, respectivamente, el crecimiento y la desintegración del ²²²Rn originado del núcleo padre, así como la desintegración de los $N_2(0)$ núcleos presentes inicialmente (t = 0). Si consideramos que la fuente es, en ese momento, una muestra pura de ²²⁶Ra, entonces $N_2(0)$ será igual a cero.

Si las ecuaciones anteriores las expresamos como actividades resulta:

$$A_2(t) = \frac{\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} A_1(0) \cdot [e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}] \quad (2.8)$$

$$A_1(t) = A_2(t) \cdot e^{-\lambda_1 t} \quad (2.9)$$

dado que el ^{226}Ra tiene un periodo de semidesintegración extremadamente largo comparado con su descendiente el ^{222}Rn (1600 años frente a 3.825 días) el término $e^{-\lambda_1 t}$ es prácticamente 1 para casi todos los valores de t, por lo que $A_1(t)$ es una constante e igual a $A_1(0)$. Despreciando λ_1 en comparación con λ_2 , y sustituyendo en la eq. 2.9, la ecuación para la actividad del radón queda:

$$A_2(t) = A_1(0) \cdot [1 - e^{-\lambda_2 t}] \quad (2.10)$$

En la Figura 2.5, se observa el crecimiento de la actividad del ^{222}Rn , que tiende a igualarse con la actividad del ^{226}Ra . Para un tiempo de espera de 30 días (aproximadamente 8 periodos de semidesintegración del ^{222}Rn), la relación entre ambas actividades es:

$$\frac{A(^{222}\text{Rn})}{A(^{226}\text{Ra})} = 0.9956 \quad (2.11)$$

una vez establecido el equilibrio secular entre ambos isótopos, y con la muestra patrón dispuesta en el detector, se acumula un espectro durante 10 minutos.

El valor numérico de la eficiencia viene dado, para cada pico de energía E_i , por la expresión:

$$Ef = \frac{C_i - f_i}{A(P) \cdot I_i} \quad (2.12)$$

donde: C_i : cuentas por segundo obtenidas bajo el pico de energía E_i

f_i : cuentas por segundo obtenidas bajo el mismo fotopico al acumular un espectro de una muestra de agua destilada, que sirve como medida del fondo

$A(P)$: actividad de la muestra patrón

I_i : intensidad absoluta de las emisiones del fotopico i .

Una vez que se han obtenido los valores de las eficiencias de los fotopicos, se procede al ajuste por mínimos cuadrados de dichos valores, encontrando la función de calibrado del sistema de medida.

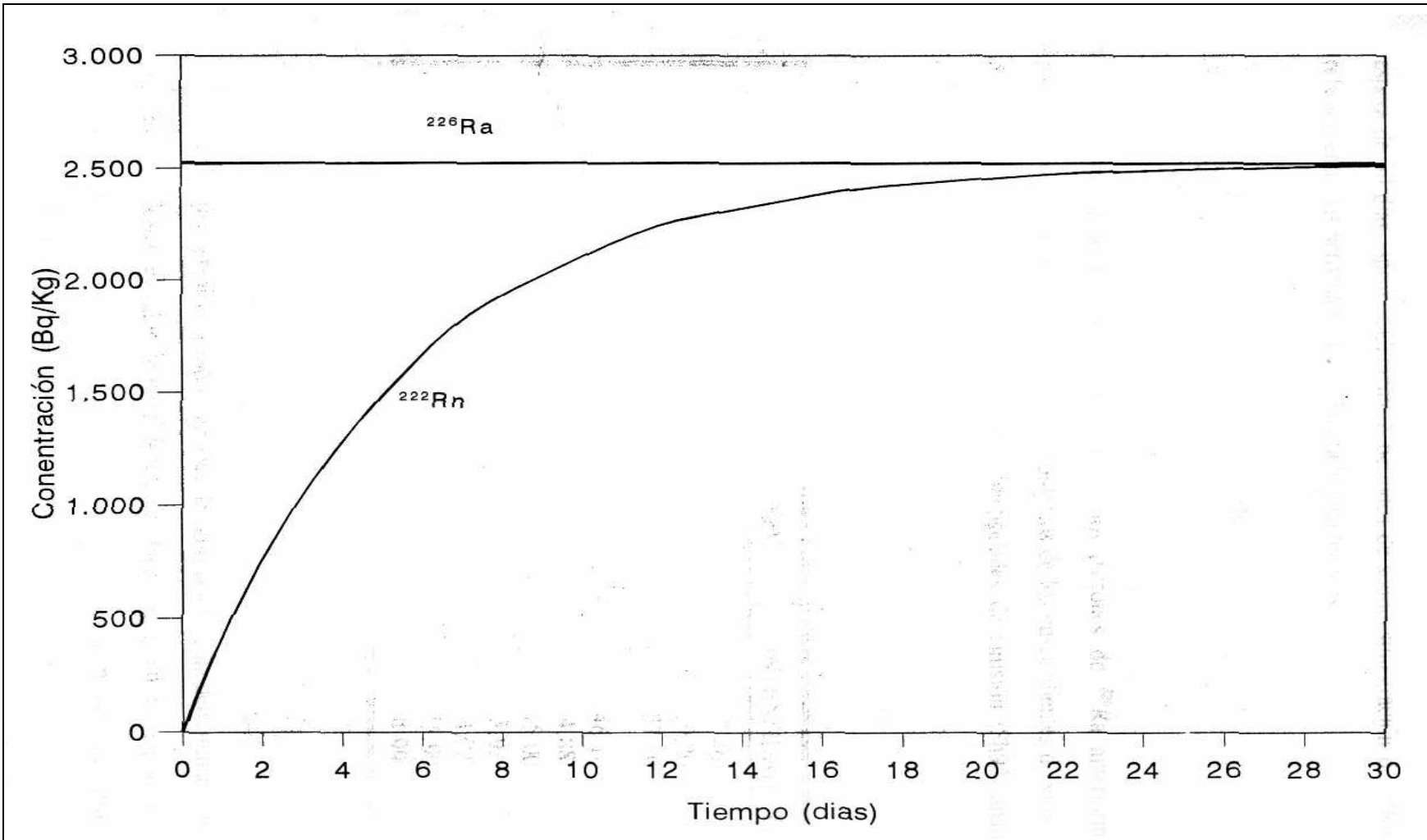


Fig. 2.5: Equilibrio radiactivo entre ^{226}Ra y ^{222}Ra

2.3.- Determinación de actividades

La determinación de la actividad de ^{222}Rn por espectrometría gamma en una muestra de agua dada se basa en la situación de equilibrio radiactivo que se produce en dicha muestra entre el radón y sus descendientes de vida corta ^{214}Pb y ^{214}Bi durante el tiempo de medida. Las medidas de actividad de radón disuelto en los medios de cultivo celulares se realizaron hallando el promedio de los valores de la concentración obtenidos a partir de los contajes de las emisiones gamma recogidas por el detector bajo los fotopicos de energías 352 keV del ^{214}Pb , y de 609 keV del ^{214}Bi .

El tiempo de espera necesario para que se alcance el equilibrio se calcula del mismo modo que en el caso del ^{226}Ra , a partir de las ecuaciones de Bateman y conociendo los periodos de semidesintegración de ambos descendientes, de 26.8 min para el ^{214}Pb y 19.7 min para el ^{214}Bi :

$$A_1(t) = A_2(t) \cdot [1 - e^{-\lambda_2 t}] \quad (2.13)$$

donde ahora los subíndices 1 y 2 se refieren al ^{214}Pb y el ^{222}Rn respectivamente.

Dejando transcurrir un tiempo equivalente a 7 periodos de semidesintegración del ^{214}Pb (187 min), la relación de actividades será:

$$\frac{A(^{214}\text{Pb})}{A(^{222}\text{Rn})} = 0.99 \quad (2.14)$$

En el caso del pico de 609 keV del ^{214}Bi , el tiempo de espera es de 138 min, por lo que después de 3 horas se puede proceder a la medida. Como se ha mencionado, los cálculos de actividad de radón se han realizado a partir de los contajes bajo ambos fotopicos, sin encontrarse diferencias significativas entre los dos resultados.

2.3.1.- Cálculo de actividad

La actividad específica (Bq/l) presente en una muestra se determina a partir del número de cuentas netas acumuladas en los canales correspondientes a los fotopicos elegidos de energía E_i , previamente seleccionados:

$$A = \frac{C_i - F_i}{E_{f_i} \cdot I_i \cdot T \cdot V} \quad (2.15)$$

donde C_i es el número de cuentas acumuladas bajo el fotopico de energía E_i durante un tiempo de conteo T expresado en segundos, F_i es el conteo del fondo en el mismo fotopico para el mismo tiempo de conteo, I_i es la intensidad absoluta de la emisión gamma de energía E_i , E_{f_i} es la eficiencia de detección para dicha energía, y $V(l)$ es el volumen de la muestra.

En el cálculo de las cuentas netas se considera que a la formación del fotopico no sólo contribuyen las emisiones gamma procedentes de la muestra, sino que también hay que tener en cuenta las debidas al fondo ambiental del laboratorio y el ruido electrónico propio del equipo de medida. Para la determinación del fondo del detector, se prepara un recipiente de igual geometría y capacidad, tubo cerrado de 30 cm³, con agua destilada y desionizada, y se acumula un espectro durante el mismo tiempo de medida que el de la muestra. La diferencia entre ambos contajes son las cuentas netas, debidas al radón presente en la muestra.

2.3.2.- Errores en la medida de la actividad

La actividad específica de una muestra y su error se calculan a partir de los valores de la eficiencia y del fondo, previamente calculados, y del resultado de la medida de las emisiones de la muestra bajo cada fotopico mediante las expresiones:

$$A = \frac{c - f}{R} \quad (2.16)$$

con $R = E_{f_i} \cdot I_i \cdot V$

la relación entre los errores absolutos vendrá dada por:

$$\frac{\sigma^2(A)}{A^2} = \frac{\sigma^2(c-f)}{(c-f)^2} + \frac{\sigma^2(R)}{R^2} \quad (2.17)$$

siendo c y f las tasas de contaje, en cuentas por segundo, obtenidas bajo el fotopico estudiado para la muestra y el fondo respectivamente.

La desviación estándar asociada al contaje neto detectado se puede expresar como:

$$\sigma^2(c-f) = \sigma^2(c) + \sigma^2(f) \quad (2.18)$$

siendo $\sigma(c)$ y $\sigma(f)$ los errores absolutos asociados a las tasas de contaje de la muestra y el fondo. Admitiendo que ambos contajes siguen una distribución de Poisson, se cumple que :

$$\sigma(c) = \sqrt{\frac{c}{t_c}} \quad \text{y} \quad \sigma(f) = \sqrt{\frac{f}{t_f}} \quad (2.19)$$

donde t_c y t_f son los tiempos de contaje de la muestra y el fondo respectivamente. Sustituyendo en la ecuación 4.17, el error asociado al cálculo de la actividad específica de la muestra vendrá dado, para un intervalo de confianza del 95%, por la expresión:

$$\varepsilon(A) = 1.96 \cdot \sigma(A)$$

es decir:

$$\varepsilon(A) = 1.96 \cdot \frac{1}{R} \left[\frac{c}{t_c} + \frac{f}{t_f} + A^2 \cdot \sigma^2(R) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.20)$$

como puede observarse, no se han tenido en cuenta los errores del volumen de la muestra ni de la intensidad absoluta de emisión gamma de cada fotopico utilizado, que pueden considerarse despreciables frente a los errores que aparecen en la ecuación anterior.

3.- Dosimetría

Utilizando el sistema de irradiación propuesto, las dosis absorbidas se deben a las emisiones alfa del ^{222}Rn y sus descendientes ^{218}Po y ^{214}Po . Las energías de las partículas alfa emitidas por cada uno de ellos son 5.49. 6 y 7.68 MeV respectivamente. Y en medio acuoso los alcances de estas partículas son 42.8 μm para las procedentes del ^{222}Rn , 49.5 μm para el ^{218}Po , y 74.2 μm para el ^{214}Po . Tanto la energía depositada por emisiones β y γ , como la probabilidad de emisión α de otros descendientes son tan bajas que su aportación a la dosis total no es significativa.

Para una concentración determinada de radón en el medio, la dosis absorbida en un experimento in vitro depende de las condiciones en las que se realice el cultivo. Por su carácter gaseoso, el radón tiende a escapar del medio en el que se encuentra disuelto hacia el ambiente, donde su presión parcial es menor. Por esta razón, en aquellos experimentos en los que el cultivo se realiza en placas abiertas, el radón escapará al aire sin contribuir a las dosis absorbida por el cultivo. En cambio, si el cultivo se lleva a cabo en tubos cerrados, el radón estará presente durante todo el experimento, contribuyendo a la irradiación debida a sus descendientes. A continuación se muestra en detalle la dosimetría para cada uno de los dos casos

Experimentos en tubos cerrados

En este tipo de experimentos el cultivo con medio irradiado permanece herméticamente cerrado todo el tiempo, y tanto las células como los factores de crecimiento se inyectan en el tubo que contiene el medio con radón en equilibrio con sus descendientes de vida corta. Por lo tanto, la contribución alfa se debe a las emisiones de los isótopos ^{222}Rn , ^{218}Po y ^{214}Po disueltos en el medio. Éste es el caso de los experimentos realizados con CD34+, en los cuales las células son cultivadas en tubos cerrados herméticamente.

La evolución con el tiempo de la dosis absorbida durante el experimento vendrá dada por:

$$D(t) = \frac{E_{\alpha}(^{222}\text{Rn}) \cdot \lambda_{222\text{Rn}} \cdot N_{222\text{Rn}}(t) + E_{\alpha}(^{218}\text{Po}) \cdot \lambda_{218\text{Po}} \cdot N_{218\text{Po}}(t) + E_{\alpha}(^{214}\text{Po}) \cdot \lambda_{214\text{Po}} \cdot N_{214\text{Po}}(t)}{m} \quad (2.21)$$

donde:

E : energías de emisión alfa de cada isótopo

λ_i : constantes de desintegración

N_i : poblaciones en el instante t de cada isótopo

m: masa de la muestra irradiada

La dosis total absorbida en un experimento se puede calcular integrando dicha expresión a la duración del mismo. Por lo tanto resulta necesario calcular las poblaciones instantáneas de cada emisor alfa, resolviendo las ecuaciones de desintegración de Bateman.

Estas son:

$$\begin{aligned}
 \frac{dN_0}{dt} &= -\lambda_0 \cdot N_0 \\
 \frac{dN_1}{dt} &= \lambda_0 \cdot N_0 - \lambda_1 \cdot N_1 \\
 \frac{dN_2}{dt} &= \lambda_1 \cdot N_1 - \lambda_2 \cdot N_2 \\
 \frac{dN_3}{dt} &= \lambda_2 \cdot N_2 - \lambda_3 \cdot N_3
 \end{aligned}
 \tag{2.22}$$

[0: ^{222}Rn 1: ^{218}Po 2: ^{214}Pb 3: ^{214}Bi (en equilibrio con ^{214}Po)]

Su resolución numérica puede realizarse mediante un programa de cálculo iterativo, teniendo en cuenta que inicialmente, al existir equilibrio radiactivo entre el radón y sus descendientes se verifica que:

$$\lambda_0 \cdot N_0(0) = \lambda_1 \cdot N_1(0) = \lambda_2 \cdot N_2(0) = \lambda_3 \cdot N_3(0)
 \tag{2.23}$$

Con este programa se ha calculado también la evolución de la tasa de dosis en los experimentos. Partiendo de las condiciones iniciales de equilibrio, puede fraccionarse la evolución de estas poblaciones en intervalos de tiempo reducidos (1s por ejemplo). Así, tras el primer segundo, las poblaciones de cada isótopo serán:

$$\begin{aligned}
 N_0(1) &= N_0(0) - \Delta N_0(1) \\
 N_1(1) &= N_1(0) - \Delta N_1(1) \\
 N_2(1) &= N_2(0) - \Delta N_2(1) \\
 N_3(1) &= N_3(0) - \Delta N_3(1)
 \end{aligned}
 \tag{2.24}$$

donde $\Delta N_i(1)$ son las variaciones en cada población tras el primer segundo, y sus respectivos valores vendrán dado por:

$$\begin{aligned}\Delta N_0(1) &= \lambda_0 \cdot N_0(0) \\ \Delta N_1(1) &= \lambda_1 \cdot N_1(0) - \lambda_0 \cdot N_0(0) \\ \Delta N_2(1) &= \lambda_2 \cdot N_2(0) - \lambda_1 \cdot N_1(0) \\ \Delta N_3(1) &= \lambda_3 \cdot N_3(0) - \lambda_2 \cdot N_2(0)\end{aligned}\tag{2.25}$$

y en general, para un instante t cualquiera, la población de cada isótopo vendrá dada por:

$$N_i(t) = N_i(t-1) - [\lambda_i \cdot N_i(t-1) - \lambda_{i-1} \cdot N_{i-1}(t-1)]\tag{2.26}$$

con $i = 0,3$

y la tasa de dosis en ese instante será:

$$\dot{D}(t) = \frac{[5.49 \cdot \Delta N_0(t) + 6 \cdot \Delta N_1(t) + 7.69 \cdot \Delta N_3(t)] \cdot 1.6 \cdot 10^{-13}}{V \cdot t}\tag{2.27}$$

donde V es el volumen de la muestra en la que están disueltos los isótopos.

La dosis total acumulada hasta ese instante será simplemente la suma de todos los valores de la tasa de dosis en todos los instantes anteriores.

Ya que la vida media del ^{222}Rn es considerablemente mayor que la duración de la irradiación, la tasa de dosis se mantiene prácticamente constante a lo largo de los mismos. Como se aprecia en la Figura 2.6. Igualmente, la concentración de emisores alfa disueltos en el medio de cultivo apenas varía, resultando la dosis absorbida durante

el experimento proporcional a dicha concentración de equilibrio y al tiempo de duración del mismo.

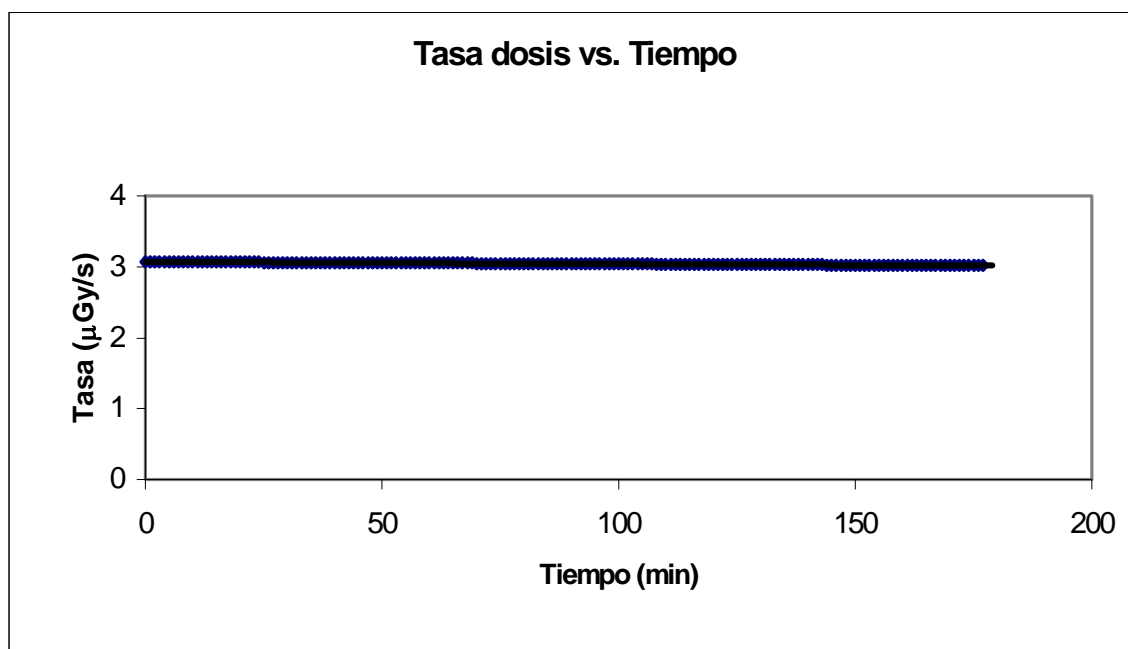


Fig. 2.6: Evolución de la tasa de dosis en experimentos realizados en tubos cerrados (caso CD34+)

Experimentos en placas abiertas

En este caso, los cultivos permanecen en placas abiertas durante todo el experimento. Por difusión al aire, el radón inicialmente disuelto en el medio se escapa, quedando únicamente sus descendientes de vida corta ^{218}Po y ^{214}Po como responsables de la irradiación.

Para comprobar este escape de radón al aire desde el medio contenido en placas abiertas se realizó la siguiente experiencia. Se disolvió una cierta cantidad de radón en el medio de cultivo estándar, y después de alcanzado el equilibrio radiactivo se midió su concentración. Posteriormente se extrajeron 5 ml y se depositaron en una placa Petri.

Por fin, usando la cadena de espectrometría gamma se midió la población del descendiente ^{214}Bi cada 3 minutos.

Por otra parte, a partir de la concentración inicial de radón en equilibrio se resolvieron las ecuaciones de Bateman bajo la hipótesis de que el gas se escapa. Por tanto, si en las eq 2.22, se cumple que $N_0(0) = 0$ quedan de la forma:

$$\begin{aligned}\frac{dN_1}{dt} &= -\lambda_1 \cdot N_1 \\ \frac{dN_2}{dt} &= \lambda_1 \cdot N_1 - \lambda_2 \cdot N_2 \\ \frac{dN_3}{dt} &= \lambda_2 \cdot N_2 - \lambda_3 \cdot N_3\end{aligned}\tag{2.28}$$

(los subíndices tienen el mismo significado que anteriormente)

Su resolución numérica a intervalos de 3 min proporciona las poblaciones teóricas de ^{214}Pb y ^{214}Bi en los instantes de medida si no hubiera radón en el medio.

En la Figura 2.7 se muestra la comparación entre los contajes medidos de ^{214}Bi , y los calculados teóricamente. Dicha comparación verifica la hipótesis de ausencia de radón en el medio, y por lo tanto de su nula contribución a la dosis absorbida por el cultivo.

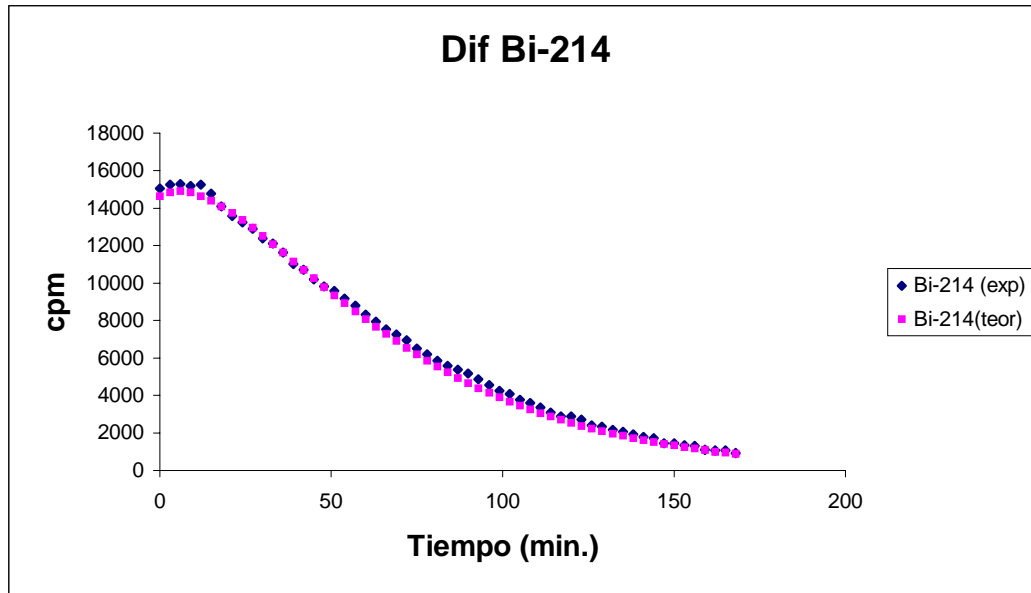


Fig. 2.7: Comparación teórico-experimental para el ^{214}Bi

Así, al contribuir únicamente los emisores alfa ^{218}Po y ^{214}Po , la dosis en este tipo de experimentos vendrá dada por:

$$D = \int_0^t [E_\alpha(^{218}\text{Po}) \cdot \lambda_1 \cdot N_1(t) + E_\alpha(^{214}\text{Po}) \cdot \lambda_{31} \cdot N_3(t)] dt \quad (2.29)$$

donde las poblaciones $N_1(t)$ del ^{218}Po , y $N_2(t)$ del ^{214}Po corresponden a las soluciones analíticas de las eq. 2.28, que son:

$$\begin{aligned} N_1(t) &= N_1(0) \cdot e^{-\lambda_1 t} \\ N_2(t) &= N_2(0) \cdot e^{-\lambda_2 t} - \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot N_1(0) \cdot e^{-\lambda_2 t} + \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot N_1(0) \cdot e^{-\lambda_1 t} \\ N_3(t) &= N_3(0) \cdot e^{-\lambda_3 t} - \frac{\lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_2} \cdot N_2(0) \cdot e^{-\lambda_3 t} + \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot \frac{\lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_2} \cdot N_1(0) \cdot e^{-\lambda_3 t} \\ &\quad - \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot \frac{\lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_1} \cdot N_1(0) \cdot e^{-\lambda_3 t} + \frac{\lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_2} \cdot N_2(0) \cdot e^{-\lambda_2 t} - \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot \frac{\lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_2} \cdot N_1(0) \cdot e^{-\lambda_2 t} \\ &\quad + \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot \frac{\lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_1} \cdot N_1(0) \cdot e^{-\lambda_1 t} \end{aligned} \quad (2.30)$$

Introduciendo estas soluciones en la eq. 2.29 se obtiene que la dosis total resulta un conjunto de constantes que multiplican a $\lambda_1 \cdot N_1(0), \lambda_2 \cdot N_2(0), \lambda_3 \cdot N_3(0)$, es decir, a las actividades iniciales de los isótopos ^{218}Po , ^{214}Pb y ^{214}Po . Ya que inicialmente se cumple la condición (eq.2.23) de equilibrio radiactivo entre el radón y sus descendientes, se obtiene que la dosis es proporcional a la concentración inicial de radón disuelto en el medio de cultivo. Como puede apreciarse en la Figura 2.8, la tasa de dosis no es constante durante la irradiación. Debido a la ausencia de radón, la tasa disminuye hasta prácticamente cero después de 200 minutos, y la forma de la curva resulta como combinación de las curvas de decaimiento del ^{218}Po y el ^{214}Po .

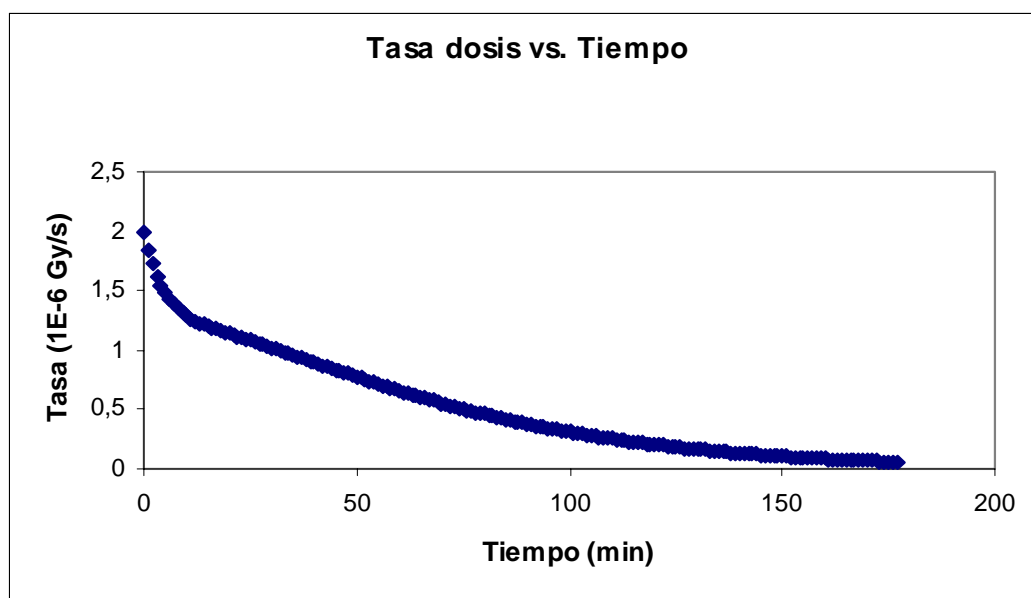


Fig. 2.8: Evolución de la tasa de dosis en cultivos realizados en placas abiertas (caso MCF-7)

3.1.- Microdosimetría α

La mayor parte de los estudios sobre efectos de las radiaciones ionizantes en poblaciones celulares se han hecho utilizando rayos X o γ como agentes de interacción. Tanto la radiación X como la radiación γ se manejan fácilmente con distintos dispositivos de irradiación y producen en el blanco dosis homogéneas que son directamente medibles. En cambio, la irradiación usando partículas α ha sido mucho menos utilizada. Contrariamente a lo que ocurre con las radiaciones de baja

transferencia lineal de energía (LET), el uso de partículas α está dificultado por la atenuación que sufren antes de llegar al blanco, por la posibilidad de liberar dosis no homogéneas y por la necesidad de calcular las dosis producidas, difícilmente medibles.

Sin embargo, y a pesar de los problemas que conlleva la irradiación, existen buenas razones para utilizar partículas α como forma de interacción. Estas están basadas en el hecho de que las partículas α producen efectos que son diferentes, al menos cuantitativamente diferentes, de los producidos por las radiaciones X o γ . Cuando la dosis promedio en un cultivo celular es pequeña, la irradiación con partículas α no produce una distribución homogénea de la dosis, sino que un número reducido de células pueden recibir cantidades de energía elevadas. En estas condiciones se puede calcular que la dosis que puede recibir un núcleo celular es superior a 1 Gy [UNS00b], mientras que la mayoría de las células no recibe dosis alguna.

Posiblemente debido a las anteriores características microdosimétricas, las partículas α y otras radiaciones de alto LET producen efectos cuantitativamente distintos de los que producen las radiaciones gamma cuando interaccionan con el DNA celular. Así, mientras las radiaciones de baja LET producen principalmente daños en bases o roturas de cadena sencilla, las partículas α producen más frecuentemente roturas de doble cadena [WAR95], más difíciles de reparar, y con posibilidad de reparación dependiente de la tasa de dosis.

Esta característica parece crítica para determinar diferencias en la eficacia biológica relativa de las partículas alfa con respecto a los rayos X o la radiación γ . Especialmente en el rango de las bajas dosis, el valor de RBE que se asigna a las partículas α no está bien determinado sino que depende de la respuesta biológica que se estudie [BAV98]. Así, para efectos producidos por muerte celular la eficacia de la radiación α toma valores dependientes del tipo de células, usualmente menores que 10 [ICR89]. En cambio, para la inducción de aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos se obtienen valores de 18 [EDW80] e incluso, en experiencias de intercambio de cromátidas hermanas se observan efectos no observados con radiación gamma, lo que implicaría un valor de infinito de la RBE [AGH88]. Todavía, el efecto relativo de las partículas α con respecto a los rayos x para la estimación de riesgos de aparición de

efectos tardíos [ENG99] es dudoso a pesar de ser un valor necesario en el cálculo de las dosis equivalentes por la población a partir de la dosis absorbida calculada por distintos modelos de simulación de irradiación de los pulmones por descendientes del radón.

Como se ha mencionado, el corto alcance de las partículas alfa con respecto a las radiaciones de menor LET supone la mayor diferencia a tener en cuenta al valorar los efectos producidos por unas y otras. En medio acuoso, este alcance suele ser menor de 90 μm , resultando del mismo orden de magnitud que el tamaño de las células irradiadas in vitro. A dosis suficientemente altas, esta característica no introduce nuevas consideraciones dosimétricas con respecto a las radiaciones X o γ , ya que puede considerarse que la deposición de energía resulta también homogénea en todo el cultivo celular. No ocurre lo mismo cuando un cultivo o tejido es irradiado con dosis bajas de partículas alfa, ya que el corto alcance de éstas hace que las deposiciones de energía tengan una fuerte variación espacial. Así, el concepto de dosis total absorbida como promedio de todas las microdosis absorbidas en el cultivo adquiere una significación distinta. El conocimiento de la dosis total puede no resultar suficiente para comprender los efectos que se observan. En este sentido, se observa que distintas distribuciones microscópicas de energía depositada, correspondientes a dosis totales idénticas, dan lugar a niveles significativamente diferentes de muerte celular. Esto hace que resulte necesario el uso de métodos microdosimétricos para abordar el estudio de los efectos inducidos por bajas dosis de radiación de alta LET.

Para ilustrar estas particularidades de las bajas dosis de radiación alfa se describirán brevemente los fenómenos que se pueden producir a escala tisular (o de grupos celulares in vitro) y celular, así como las magnitudes empleadas para abordar su estudio. Para ello, nos fijaremos en parámetros que describen las curvas de supervivencia celular tras la irradiación.

Cuando un cultivo celular in vitro es irradiado con partículas alfa, pueden ocurrir distintas situaciones en cuanto a la deposición de energía como se esquematiza en la Figura 2.9. Algunas células no sufrirán interacción directa (deposición de cierta cantidad de energía en el volumen celular) con ninguna partícula alfa. Otras podrán ser alcanzadas tangencialmente con la mínima deposición de energía. Y otras sufrirán interacciones directas con una o más partículas alfa. La proporción de células en cada

una de estas situaciones será muy variable en función de la dosis total administrada y, en definitiva, dependiendo del número total de partículas alfa emitidas en el cultivo. A dosis muy bajas, el porcentaje de células alcanzadas directamente será muy bajo como se verá posteriormente. Esta primera aproximación al cultivo puede correlacionarse con la curvas de supervivencia y, en concreto, con el parámetro de supervivencia poblacional D_0 .

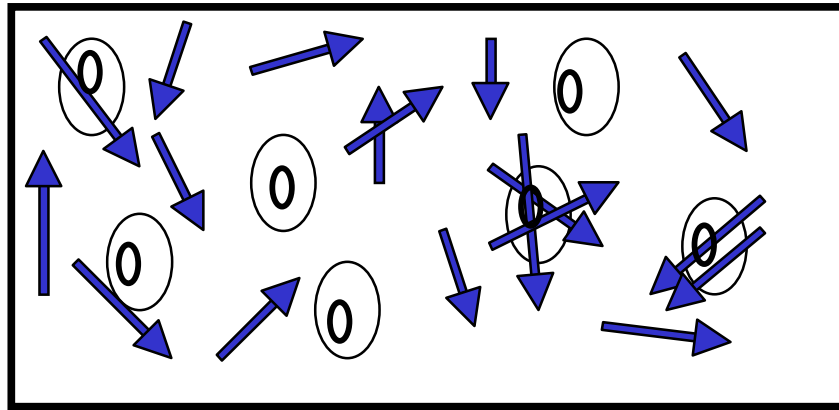


Fig. 2.9: Esquema simplificado de interacción entre partículas alfa emitidas en el medio de cultivo y las células. Los núcleos celulares se esquematizan como ovoides dentro de las células.

Si se realiza una aproximación a escala celular, se constata que la energía depositada por una partícula alfa en una única célula podrá ser altamente variable. A esta escala, en lugar de dosis absorbida, se emplea la magnitud microscópica energía específica (z).

Ésta puede definirse como:

$$z = \frac{\varepsilon}{m} \tag{2.31}$$

donde m es la masa del blanco (célula) y ε es la energía depositada por la partícula alfa en su recorrido por el interior de la célula. Como puede apreciarse en la Figura 2.10, este valor es muy variable,

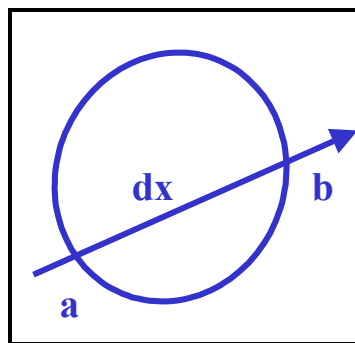


Fig. 2.10: Trayecto de deposición de energía en la célula

y puede calcularse como:

$$\varepsilon = \int_a^b \left(\frac{dE}{dx} \right) \cdot dx$$

siendo $\left(\frac{dE}{dx} \right)$ la pérdida de energía por unidad de recorrido de la partícula alfa al atravesar un determinado material, es decir, transferencia lineal de energía para partículas alfa [ICR98].

A esta escala, el parámetro de supervivencia celular poblacional D_0 no resulta suficientemente preciso, siendo necesario definir un parámetro más fundamental. Éste es el parámetro de supervivencia celular individual z_0 . Mientras que D_0 es función de la geometría emisor-blanco, es decir, de la distribución de energía específica dentro del

cultivo, z_0 depende únicamente de la calidad de la radiación y de la sensibilidad celular [ROE99].

Diversos estudios en este campo [ROE97] están encaminados a diseñar modelos que sirvan para correlacionar parámetros microdosimétricos con observables macroscópicos como la supervivencia celular o la radiosensibilidad de distintos tejidos. Estos trabajos están enfocados a relacionar z_0 con D_0 , cuya complejidad matemática aumenta con la exactitud de los modelos empleados. Este tipo de estudios resulta de interés en aplicaciones terapéuticas de la radiación alfa. El principal uso en este sentido es el tratamiento local de metástasis cancerosas. Los métodos microdosimétricos permiten predecir curvas de supervivencia celular para diferentes configuraciones entre emisores y blancos, pudiéndose estimar el porcentaje de células alcanzadas por una o más partículas alfa, o no alcanzadas por ninguna.

Como se muestra a continuación, se ha realizado una simulación tipo Montecarlo para estimar el porcentaje de células que sufren interacción en los modelos experimentales utilizados.

3.2.- Simulación Montecarlo

Diseñando un programa basado en la generación de números aleatorios se ha estimado el porcentaje de células en cultivo alcanzadas por una emisión alfa procedente de emisores disueltos en el medio y homogéneamente distribuidos en él. Las variables empleadas en la computación son las posiciones de emisores alfa y células, el radio celular R y la concentración de emisores en el medio. Como constantes se utilizan las constantes de deintegración radiactiva de los isótopos ^{222}Rn , ^{218}Po , ^{218}Ac , ^{214}Pb y ^{214}Po , el alcance de partículas alfa en medio acuoso ($60\mu\text{m}$) y la concentración de células en los cultivos.

Partiendo de una concentración inicial de emisores disueltos en el medio (dada por la concentración inicial de radón en equilibrio con sus descendientes) se contemplan dos posibilidades. La primera es la desaparición de todo el radón al comienzo de los experimentos (como es el caso de las experiencias realizadas con fibroblastos y MCF-7), y la segunda la presencia de radón durante todo el experimento (caso de las

experiencias con CD-34+). En el primer caso, todos los descendientes decaen durante el experimento, por lo que el número total de emisiones alfa se calcula directamente a partir de las poblaciones iniciales de equilibrio. En el segundo caso, la presencia de radón hace que la tasa de desintegraciones se mantenga prácticamente constante durante todo el experimento, con lo cual basta calcular el número de emisiones alfa que se produce en un minuto y extender los cálculos realizados a en ese intervalo a la duración del experimento.

Una vez introducida la concentración inicial de emisores se generan aleatoriamente las posiciones de emisores alfa y células en un volumen determinado. Estas posiciones se generan a partir de una función de distribución uniforme, excepto en el caso de simulación de experimentos en los que las células crecen adheridas al fondo de las placas de cultivo, en el cual se supone una componente vertical nula al generar las posiciones celulares.

Una vez generadas estas posiciones se calculan las distancias entre cada emisor y todas las células. Estas distancias sirven para estimar la probabilidad de que una partícula alfa emitida a distancia d de una célula, interacciones con ésta. El cálculo de estas probabilidades de interacción individual se realiza de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \text{Si } d > A &\Rightarrow p = 0 \\ \text{Si } R < d \leq A &\Rightarrow p = \frac{\pi \cdot R^2}{4 \cdot \pi \cdot d^2} = \frac{R^2}{4 \cdot d^2} \\ \text{Si } d \leq R &\Rightarrow p = 1 \end{aligned}$$

donde p es la probabilidad de interacción de la partícula alfa con la célula situada a distancia d del emisor. En el caso de que la célula se encuentre a una distancia menor que el alcance de la partícula alfa, la probabilidad de interacción se evalúa por comparación de ángulos sólidos. El ángulo sólido con el que subtiende la célula de radio R (supuesta esférica) desde el emisor a distancia d , es $\frac{\pi \cdot R^2}{d^2}$, y el ángulo sólido total de emisión de la partícula alfa (considerando igualmente probable la emisión en cualquier dirección) es de 4π . Por lo tanto, el cociente de ambas (emisión en dirección

favorable/emisión en dirección posible) corresponderá con la probabilidad buscada. (Fig. 2.11)

Una vez calculadas las probabilidades individuales basta normalizar el resultado al número total de células presentes en el experimento para obtener el porcentaje de células alcanzadas por una o más partículas alfa emitidas en el medio.

Resultados

Introduciendo concentraciones iniciales del orden de la utilizadas en nuestros experimentos (10^6 Bq/l) y radios celulares entorno a $10\ \mu\text{m}$ se obtuvieron bajos porcentajes de interacciones directas en todos los casos. En la simulación de experimentos en ausencia de radón y células pegadas al fondo de las placas de cultivo (fibroblastos y MCF-7) los resultados fueron menores del 1%. En el caso de experimentos de mayor duración, con células en suspensión y presencia de radón (CD34+) este porcentaje llegó hasta valores del 10%.

Cabe reseñar que si se reducen los radios celulares hasta el valor típico del núcleo celular para calcular los mismos porcentajes de interacción en núcleos estos porcentajes se reducen hasta el 0.01% en el primer caso y 2% en el segundo.

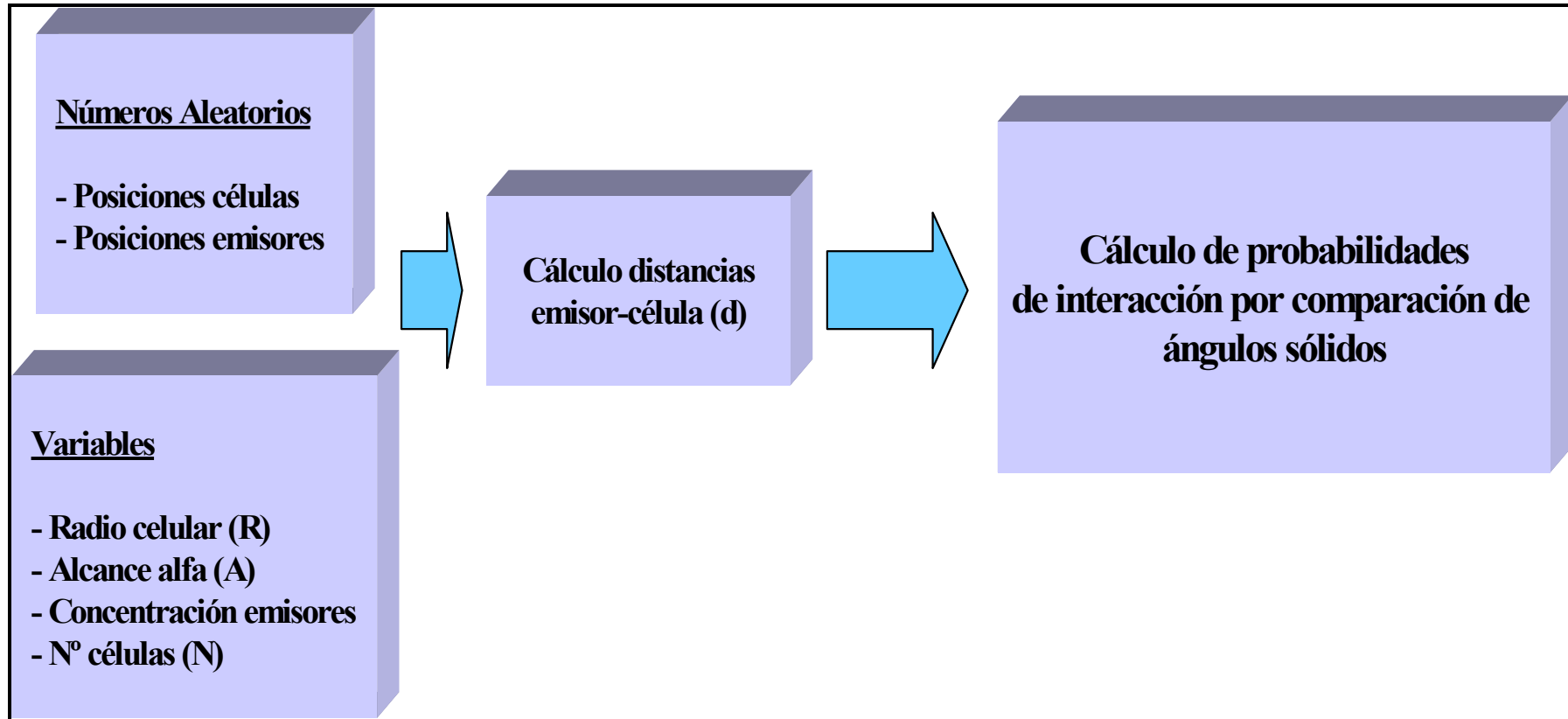


Fig. 2.11: Esquema del programa de simulación Montecarlo