

06.75.18

CNEA AC 12/75

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

AREA RADIOISOTOPOS Y RADIACIONES

DEPARTAMENTO FUENTES INTENSAS

EFECTO BIOLOGICO DE LAS RADIACIONES IONIZANTES

Dr. E.E. MARIANO, *Enrique Eduardo*

División Fuentes Intensas de Radiación

Buenos Aires

Reimpresión 1975

EFFECTO BIOLOGICO DE LAS RADIACIONES IONIZANTES

INTRODUCCION

Los fenómenos que se manifiestan en los organismos superiores, como patología de las radiaciones, son consecuencias de alteraciones fisicoquímicas provocadas por la absorción de la energía en las diferentes sustancias componentes de las células.

Este concepto nos obliga a tener en cuenta todos los mecanismos bioquímicos y fisiológicos celulares, para poder interpretar las distintas alteraciones provocadas por la irradiación en los seres vivos.

Son conceptos muy importantes a tener en cuenta en este análisis:

- 1) Calidad y cantidad de las diferentes sustancias componentes de las células.
- 2) Funciones en las que estas sustancias químicas están comprometidas.
- 3) Etapa fisiológica en que la célula es sometida a los efectos de las radiaciones.
- 4) Grado de diferenciación de las células irradiadas.
- 5) Actividad metabólica de las mismas.

1.- CELULA, REPRODUCCION Y VIDA

La continuidad de la vida de una especie depende de la transmisión de ciertas sustancias de los padres a los hijos.

Todos los organismos están formados por una o más células y todas provienen de otras ya existentes; el organismo humano está formado por unas 2×10^{11} células.

La célula está constituida por un cuerpo denso; el núcleo, rodeado

por una membrana y sumergido en un medio menos denso, semifluido y coloidal; el citoplasma. La célula está rodeada por una membrana semipermeable a través de la cual se realizan continuos intercambios metabólicos.

El citoplasma contiene diferentes cuerpos que desempeñan distintas funciones. Entre los mismos, cabe destacar las mitocondrias, que tienen algunos micrones de longitud y son el centro de la actividad del metabolismo energético. Otras partículas dignas de mención son los microsomas; cuerpos microscópicos reconocibles por sus actividades enzimáticas y su contenido en ácidos ribonucleicos, lípidos y proteínas. Como sitio donde tiene lugar la síntesis de proteínas se destacan los ribosomas.

a) Núcleo

El núcleo se presenta como el cuerpo de aspecto más constante por lo menos dentro de las células de una misma especie.

Las estructuras intranucleares de mayor interés desde el punto de vista genético son los cromosomas, éstos contienen las dos formas de ácidos nucleicos; desoxirribonucleicos (ADN) y ribonucleicos (ARN), que se hallan combinados con algunas proteínas básicas. En los organismos con reproducción sexual los cromosomas se presentan de a pares, siendo en un mismo par; uno de origen materno y otro de origen paterno. El número de pares varía en las células somáticas según las especies, en el hombre se suponía hasta no hace mucho tiempo que los núcleos de células somáticas contaban con 48 cromosomas, pero estudios críticos más minuciosos sólo acusaron 46 cromosomas.

En las células germinales se encuentra la mitad del número de cromosomas que en las células somáticas. Esta reducción se produce durante el proceso de meiosis. En resumen, una célula somática diploide tiene dos n pares de cromosomas en cambio una célula aploide tiene n pares de cromosomas.

(1)

En la división celular pueden ser considerados diferentes períodos teniendo en cuenta, el aspecto morfológico de la célula y los mecanismos químicos y fisiológicos que se producen.

b) Mitosis

Intercinesis (figura 1.a)

Es el período que transcurre entre dos divisiones celulares; se caracteriza porque los cromosomas no son visibles y por no observarse actividad morfológica alguna relacionada con la división celular, sin embargo es probable que sea éste, el período de mayor actividad química en los núcleos celulares.

profase (figura 1.b,)

Es el período de preparación de la división celular. La imagen morfológica presenta a los cromosomas como fibras que paulatinamente se acortan y se espesan por un proceso de espiralización.

metafase (figura 1.c.)

La membrana nuclear desaparece y se visualiza una estructura en forma de huso debido a que sus componentes químicos presentan mayor densidad que el citoplasma que lo rodea. Las fibras de esa estructura unen los dos polos del huso cromático, determinados por los centrosomas, para la formación de dicho huso se ha producido una síntesis de proteína, concepto que es de mucha importancia en el análisis que realizaremos más adelante.

Los cromosomas se ordenan en un plano ecuatorial equidistante entre los dos polos del huso. En éste estadio mitótico los cromosomas se visualizan fácilmente y pueden ser contados.

Durante la metafase cada cromosoma se divide longitudinalmente en dos cromosomas hijos. No existe acuerdo entre los histólogos sobre el momento justo en que se produce la duplicación, la cual involucra la síntesis de los constituyentes químicos de los genes que están interesados en la transmisión de los caracteres genéticos. Es muy probable que estos fenómenos acontezcan durante la intercinesis y que durante la metafase se produzca sólo la separación física de los cromosomas hijos.

anafase (figura 1.d.)

Los cromosomas hijos comienzan un movimiento migratorio hacia los polos del huso cromático. Los cromosomas se mantienen unidos a los filamentos del huso mediante los centrómeros que les sirven de guía en su movimiento migratorio.

Telofase (figura 1.e.)

Los cromosomas hijos se reúnen en los polos del huso y son envueltos por una nueva membrana nuclear. Gradualmente se alargan, se enrollan y se vuelven menos teñibles, el huso mitótico desaparece. Ocurre entonces la citodiéresis, es decir la formación de una membrana celular que delimita las dos nuevas células hijas.

e) Meiosis

Hasta aquí hemos descripto el proceso de división de una célula somática de $2n$ pares de cromosomas, mitosis. Existe además otro tipo de división celular que se presenta en las células germinales y que denominamos meiosis. El mismo consiste en dos divisiones celulares seguidas. En la primera el período de profase es más prolongado que en la mitosis y en el mismo se produce una estrecha vinculación de los cromosomas, en la segunda no se provoca la duplicación de los cromosomas, por lo que se originan células aploides con n pares de cromosomas.

2. ALGUNOS CONCEPTOS SOBRE BIOQUÍMICA CELULAR

Haremos un ligero análisis de la bioquímica celular y de los principales componentes químicos de las células; puntualizando, aquellas sustancias y mecanismos, cuyas transformaciones por efectos de las radiaciones provocan mayor trastorno en la fisiología celular y consecuentemente en los

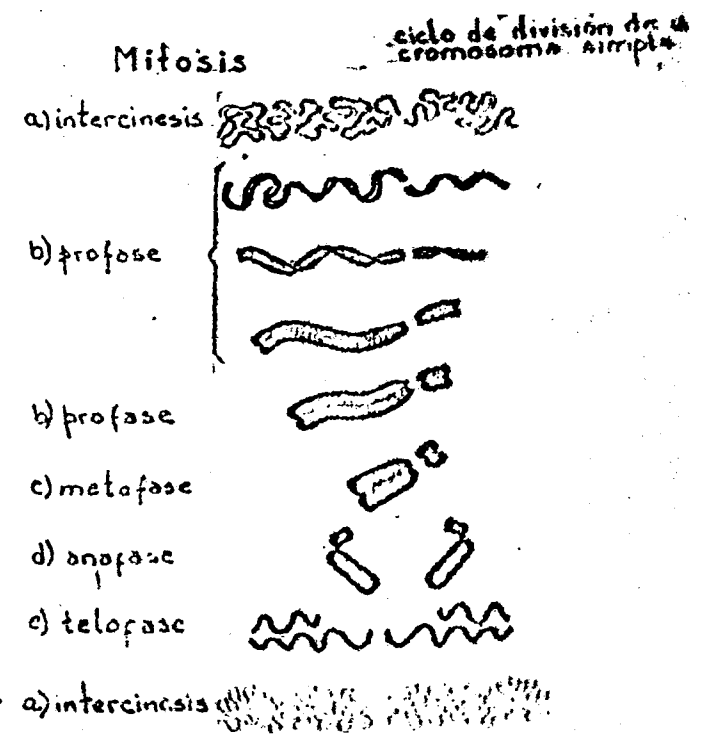
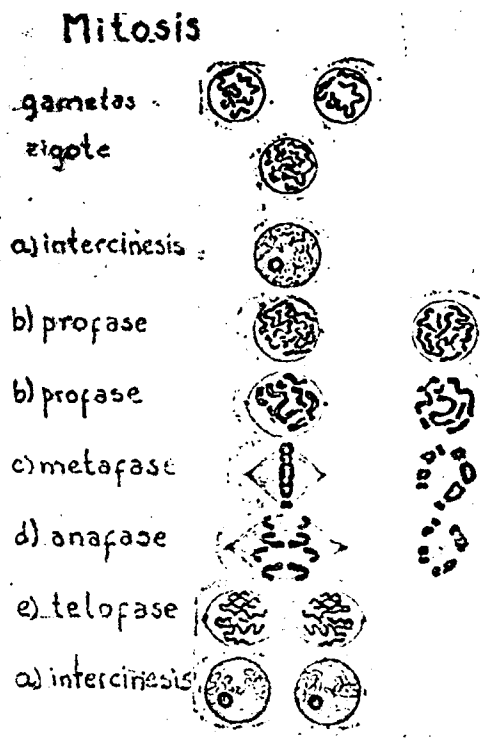
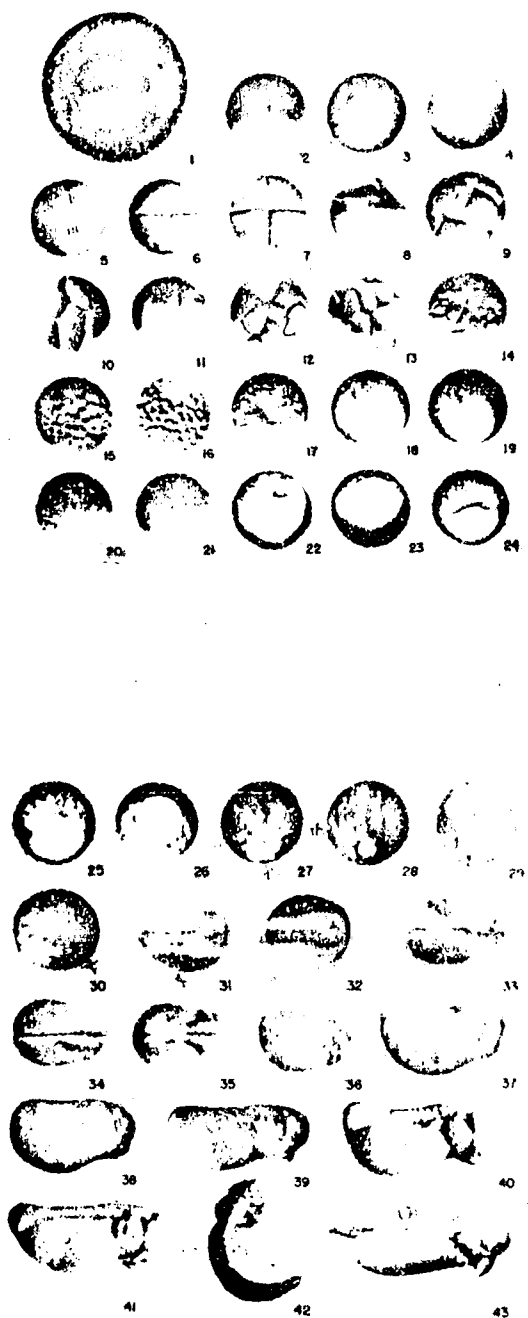


Fig 1. M.A. KUYPER



1, 2, 3, 4 cigote; 5 esbozo de la 1a. división; 6 dos blastómeros; 7 cuatro blast.; 8 ocho blast.; 9 a 11 multiplicación de blast.; 12 a 15 mórula; 16 blástula inicial; 17 blástula media; 18, 19, 20 y 21 blástula final; 22, 23 y 24 labio dorsal; 25 y 26 gástrula media; 27 y 28 gástrula final ; 29 y 30 placa neural; 31 y 32 rotación; 33, 34 y 35 tubo neural.

fig. 2. R. Rugh. Primeros estadios del desarrollo embrionario

organismos irradiados.

Podemos como primera aproximación para facilitar nuestro análisis dividir los componentes químicos de las células en dos categorías.

1º) Sustancias cuyas funciones son desempeñadas por una única molécula, a éste grupo corresponden las moléculas de ADN que, como sabemos, contienen la información genética químicamente codificada por sus secuencias de nucleótidos. Este tipo de sustancias no tiene precursores y sólo durante la mitosis se sintetizan de acuerdo al modelo de la molécula ya existente.

2º) Sustancias cuyas funciones son desempeñadas por un conjunto de moléculas y que por lo tanto en las células existen en forma más o menos abundantes, a éste grupo corresponden la mayor parte de los componentes químicos de las células ya sean estos inorgánicos u orgánicos, es decir, que en este grupo de sustancias estarían comprendidas; el agua, las sales, los lípidos, los hidratos de carbono, las proteínas, algunos ácidos nucleicos, etc. Unas de las sustancias que merecen mayor consideración, por el efecto que producen las radiaciones ionizantes sobre la misma y la trascendencia que pueden llegar a tener los productos formados como consecuencia de la absorción de la energía, es el agua; esta es uno de los principales componentes de la célula, llegando a comprender el 70% de ella.

Tomando en consideración la trascendencia que tiene el metabolismo proteico en la economía y diferenciación celular y teniendo en cuenta que, la alteración introducida en estos mecanismos compromete seriamente la vida de la célula, pasaremos a analizar los mecanismos de síntesis de estas sustancias.

Las proteínas son sustancias formadas por una secuencia heterogénea de amino ácidos. Esta secuencia junto con el tamaño molecular determina las características particulares de cada proteína.

En el organismo, cada proteína desempeña una función específica, determinando características funcionales y morfológicas de los diferentes tejidos y órganos. Es así que, durante el desarrollo embrionario en el estadio de gástrula

donde comienzan a diferenciarse las distintas capas tisulares, la síntesis proteica adquiere particular importancia (figura 2),(3),(4) y (5).

Las proteínas están constituidas por amino ácidos, los cuales según su secuencia y abundancia determinarán las características funcionales de las moléculas de proteínas de las que forman parte, en algunos casos podremos encontrar los 20 amino ácidos naturales, mientras que en otros, observaremos, la carencia de algunos de ellos, Por lo tanto, para la síntesis de estas sustancias la célula deberá servirse de una guía que le permita incorporar cada amino ácido en una posición determinada dentro de la cadena proteica.

Habíamos visto que en el núcleo de la célula encontrabamos ciertas formaciones llamadas, cromosomas, constituidas por ácidos desoxirribonucleicos, proteínas básicas, algunos lípidos e iones. Los cromosomas son depositarios de los caracteres hereditarios que se transfieren de un individuo a otro por intermedio del ADN, a su vez, esta sustancia, sirve de molde para la síntesis de las sustancias precursoras de la síntesis proteica.

A continuación pasaremos revisión a los mecanismos más sobresalientes que estan involucrados en la síntesis de las proteínas-

a) Constitución del ADN

La molécula de ADN, está constituida por una secuencia de nucleótidos, constituidos a su vez por una base nitrogenada unida a una molécula de desoxirribosa, en la cual una de sus funciones alcohólicas se encuentra esterificada por un ión fosfato. (figura 3).

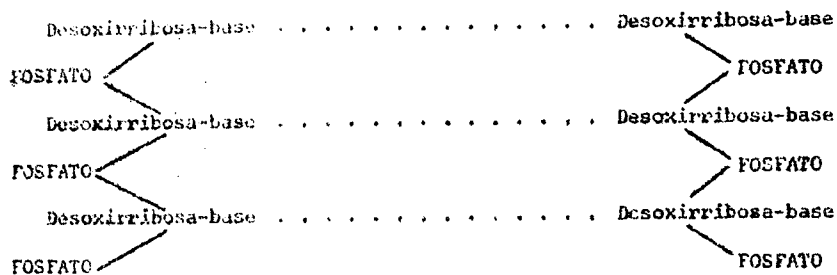
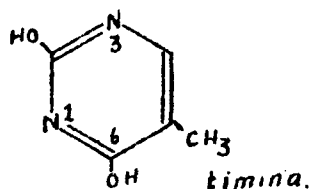
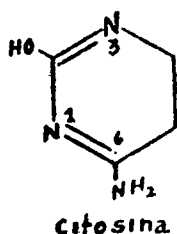


Fig. 3. Detalle de la estructura de ADN según Watson y Crick - 1953

Las bases nitrogenadas que pueden intervenir en la formación de un nucleótido son: adenina, citocina, guanina y timina (figura 4)

Bases Pirimidinicas



Bases Púricas

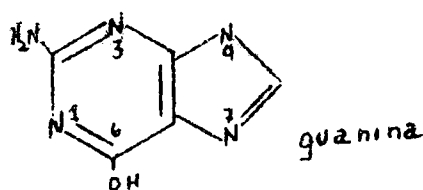
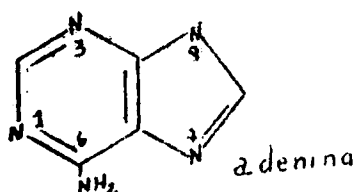
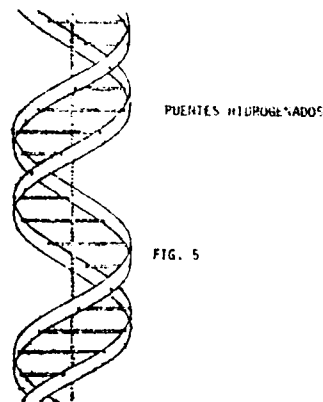


FIGURA 4

Los nucleótidos se unen por puentes fosfatos entre los carbonos 3 y 5 de la desoxirribosa constituyendo largas cadenas. Cada nucleótido, por su ubicación, con respecto a los otros nucleótidos vecinos, adquiere un significado en el lenguaje químico de la célula. La información contenida en el ADN debe perdurar durante la división celular, para esto será necesario una duplicación de la molécula en cada citodiéresis. Análisis sobre la estructura del ADN por difracción con rayos X, muestran que la misma posee una estructura helicoidal (figura 5)



Según el modelo de Watson y Crik el ADN estaría formado por dos largas cadenas de nucleótidos que se unen entre sí por medio de puentes de hidrógeno que se establecen entre la adenina de una de las cadenas con la timina de la otra y la guanina de una con la citosina de la otra, Estos puentes de hidrógeno se ubican entre las posiciones 1 y las posiciones 6 de las moléculas interesadas (figura 4)

Durante la división celular las cadenas de ADN se separan y cada una será capaz de sintetizar su cadena complementaria, este es el motivo que durante la metafase la cantidad de ADN por célula se encuentra duplicado.

Este mecanismo garantiza durante la división celular que la información contenida en el ADN perdure,

b) Transmisión de la información

Durante la síntesis proteica, la información contenida en el ADN, es transmitida al lugar donde se realiza la misma, mediante una sustancia cuya constitución es muy semejante al ADN y que por lo tanto es capaz de copiar la información almacenada en su molécula a fin de transmitirla al citoplasma. Estas funciones son realizadas en la células por el ARN mensajero (mARN).

c) Lugar de la síntesis proteica

En el citoplasma encontramos una formación que por sus caracterís ticas físicas y químicas es capaz de retener el ARN mensajero, constituyen do así, el lugar donde se deposita toda la información proveniente del núcleo de la célula, esta función la desempeña el ribosoma que posee entre sus componentes químicos el ARN ribosomal.

d) Transportador de amino-ácidos

Transferida la información del núcleo al citoplasma es necesario la presencia de otra sustancia que interprete la información contenida en el ARN mensajero y que al mismo tiempo transporte los distintos amino-ácidos y los ubique en una determinada posición dentro de la molécula proteica en formación, esta función la cumple el ARN de transferencia (sARN). En resumen, la función del ARN de transferencia correspondería, a la del traductor del código depositado en el ribosoma.

e) Características y síntesis de los diferentes ARN

Los tres tipos de ARN antes mencionados presentan diferencias físi cas y químicas. Sus funciones son también diferentes pero sin embargo son complementarias.

f) ARN Mensajero (?)

Este ARN presenta las siguientes características:

1º) Ser polinucleótido

2º) Si se determina su coeficiente de sedimentación, esta fracción de

ARN se presentará heterogénea y su masa dependerá del largo de la cadena polipeptídica a sintetizar, Es así que, como veremos más adelante, un código para un amino ácido involucra tres nucleótidos. El peso molecular del mARN no deberá ser inferior a 500.000 que correspondería a 1.500 nucleótidos, es decir, que esta molécula será capaz de sintetizar una proteína de 500 amino ácidos. Las grandes moléculas de proteínas deberán estar codificadas por mARN de un peso molecular superior a 1.000.000.

3º) Deberá poseer una composición de bases similares al ADN.

4º) Deberá estar por lo menos temporariamente asociado a los ribosomas que es el lugar de la síntesis proteica.

5º) Deberá ser metabólicamente activo. Es decir se renovará rápidamente.

6º) En medio in vitro tendrá la propiedad de incorporar amino ácidos.

La síntesis de esta sustancia se realiza con la guía de una de las cadenas del ADN, para ello, frente a cada uno de los nucleótidos componentes de la cadena se ubicará el ribonucleótido complementario, formándose de esta forma el futuro mARN; que tendrá, por lo tanto, la misma secuencia de nucleótidos de una fracción de la cadena del ADN que no participa en la síntesis (figura 6).

Figura 6 Molécula de ADN según la estructura helicoidal propuesta por Watson y Crick. En (a) se puede observar las dos cadenas denominadas aquí I y II unidas por puentes hidrogenados que se establecen entre los nucleótidos complementarios. En (b) ambas cadenas se encuentran separadas. En (c) se observa una molécula de mARN en proceso de síntesis según la guía de la cadena II del ADN, su secuencia de bases es similar a la cadena I del ADN.

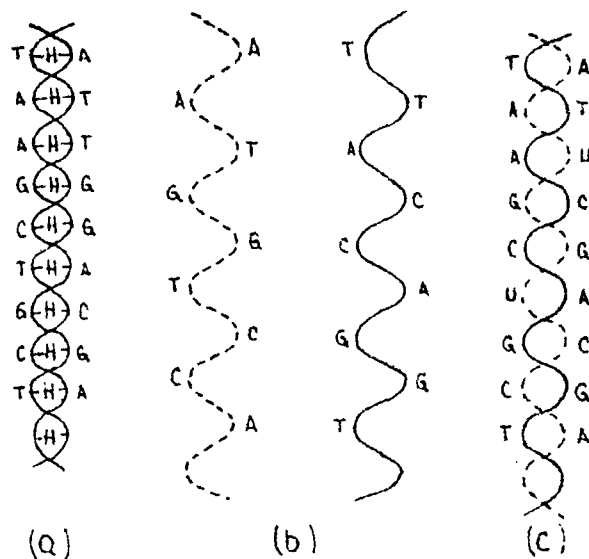
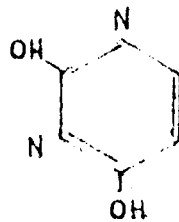


Fig. 6

En el mRNA como en todos los otros tipos de ARN la base Timina del ADN es sustituido por el uracilo (figura 7).



URACILO

g) ARN Ribosomal

Fig. 7

También se sintetiza en el núcleo, más concretamente en el nucléolo, sin embargo el hecho de que esta sustancia no presenta una composición de bases similares a la del ADN, sugiere que el mecanismo de síntesis es diferente a la del ARN mensajero.

Esta fracción del ARN presenta coeficientes de sedimentación característicos para todas las células animales (28 y 18 S.).

h) ARN de Transferencia

Se sintetiza en los nucleolos; según recientes estudios, el ARN de transferencia y el ribosomal, son sintetizados a nivel de la membrana nucleolar en algunos lugares donde la misma entra en contacto con los cromosomas.

El ARN de transferencia juega un papel fundamental en la activación de los amino ácidos y consecuentemente en la síntesis de los polipéptidos.

Este ARN presenta un peso molecular de alrededor de 25.000 es decir que contiene aproximadamente de 76 a 80 nucleótidos (7).

Código: Existen en la naturaleza alrededor de 20 amino ácidos que componen las proteínas. La combinación de las 4 bases del ARN mensajero deberá, por lo tanto, determinar la incorporación de cada uno de los amino ácidos de la cadena proteica en formación. Para lograr con 4 nucleótidos por lo menos 20 combinaciones diferentes será necesaria la participación de 3 de ellos por vez $4^3 = 64$ posibilidades, lo que es suficiente para determinar el encadenamiento de todos los amino ácidos.

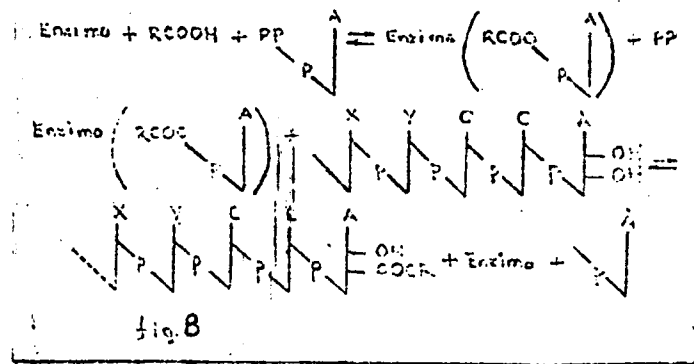
El código estará constituido de esta manera por la sucesión de triplete de nucleótidos (codón) cada uno de los cuales determinará la incorporación de un amino ácido.

Se puede suponer en base al razonamiento anterior, que un polinucleótido, que esté constituido por la sucesión de un solo nucleótido y que pueda actuar como ARN mensajero, deberá formar un polipéptido constituido por la sucesión de un solo aminoácido, en efecto Nirenberg y Mathei (9) utilizando poli-u obtuvieron la formación de polifenilalanina.

i) Mecanismos de síntesis

Complejo ARN mensajero - ARN ribosomal.

El ARN mensajero se deposita en los ribosomas. Experimentalmente se ha demostrado que el elemento activo de la síntesis de una proteína específica (hemoglobina) es en realidad el complejo entre una larga molécula de ARN mensajero y 5 a 8 ribosomas, a este complejo activo se lo denomina polirribosoma. (figura 10).



j) Activación de los aminoácidos

Los aminoácidos sufren primeramente una activación, gracias a la intervención del ARN de transferencia. Luego son encadenados de acuerdo con el código contenido en el ARN mensajero.

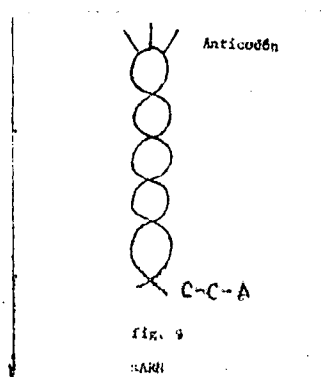
Los diversos componentes necesarios para la constitución de un sistema de incorporación son: 1 - aminoácidos, 2-ATP, 3-enzimas solubles (pH 5) que son las enzimas activadoras de aminoácidos; 4-ARN soluble; 5-ARN ribosomal (ribosoma); 6-ARN mensajero.

Aún cuando los diferentes ARN de transferencia pueden presentar una gran variedad en sus secuencias de nucleótidos en el interior de la cadena, la secuencia en los tres nucleótidos terminales es siempre la misma C.C.A. El último nucleótido es siempre el ácido adenílico que posee dos oxidrilos libres en los carbonos 2' y 3' que es probablemente el que se esterifica con el aminoácido.

El esquema de la formación del complejo aminoácido -ARN de transferencia puede representarse en la forma siguiente (figura 8).

El aminoácido es activado por una enzima específica formando el complejo Enzima - Aminoacil - Adenina, este complejo, reacciona con el oxidrilo 3 de la adenosina terminal del ARN de la transferencia (sARN). Después de la fijación del aminoácido al ARN de transferencia puede ser incorporado a la cadena proteica aunque el mismo sufra una modificación artificial.

La molécula de sARN está formada por 76 a 80 nucleótidos y la misma se repliega sobre sí misma formando dos hélices; en la molécula de este ARN existen 3 bases que son complementarias a uno de los tripletes del ARN mensajero (anticodón). Es por estas bases que el sARN se ubica en el lugar específico del mRNA. (figura 9).



El ARN ribosomal desempeña sólo una función de soporte para el mRNA no mostrando ninguna especificidad.

La síntesis de una proteína puede ser resumida en el esquema siguiente, según Brachet. (figura 10).

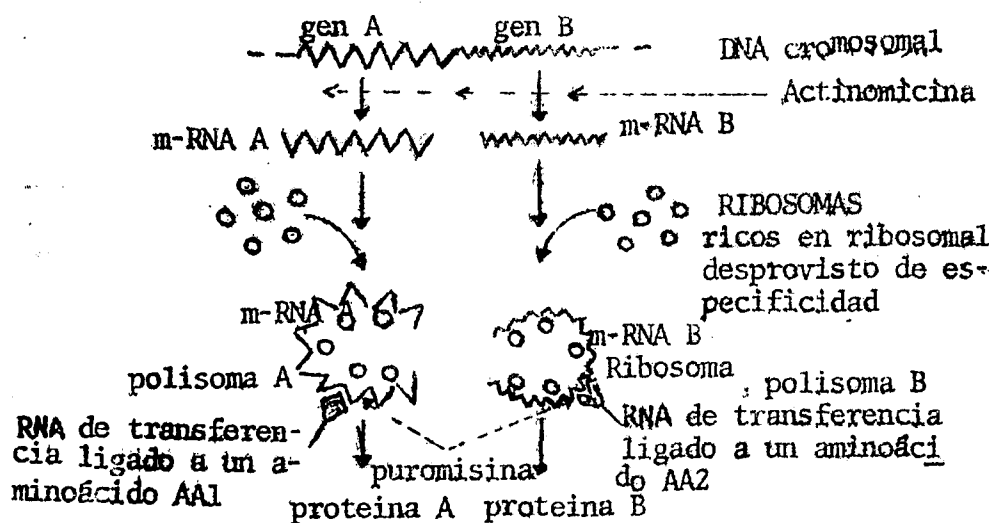


fig. 10

3.- DESARROLLO EMBRIONARIO Y SINTESIS PROTEICA

Trabajos de Brachet (10 y 11) y su escuela demostraron que bloqueando la síntesis del ARN mensajero con actinomicina D el desarrollo embrionario continúa normalmente hasta el estadio de gástrula (figura 2). Estas experiencias señalan que la síntesis del ARN mensajero y consecuentemente las síntesis de las proteínas, juegan un papel trascendental en este estadio embrionario, en el que por otra parte se diferencian las distintas capas tisulares del nuevo ser en formación (endoderma, mesoderma, ectoderma).

4.-NOCIONES GENERALES SOBRE RADIACIONES IONIZANTES

Se llaman ionizantes a las radiaciones electromagnéticas o corpusculares que producen directa o indirectamente iones cuando atraviesan la materia (rayos Alfa, Beta, Gamma, X y Neutrón).

Al igual que la luz visible y los rayos ultravioletas, las radiaciones X y Gamma son radiaciones electromagnéticas, sólo que estas últimas presentan menor longitud de onda y mayor energía que aquellas, estas diferencias se ponen de manifiesto cuando la energía de estas radiaciones es absorbida por la materia. Así, mientras la absorción de la energía de los rayos ultravioletas se ve influenciada por la estructura molecular, en el caso de los rayos X o Gamma ni la estructura molecular, como tampoco la estructura elemental de la molécula llegan a ejercer una notable influencia en la absorción de la energía.

En otras palabras la acción de los rayos X y Gamma, es mucho menos selectiva que la de los ultravioleta.

Así si se irradia con ultravioletas sueroalbúmina, y ácidos nucleicos, podremos observar que el 90% de la energía es absorbida por los ácidos nucleicos y sólo un 10% es absorbido por las proteínas. En cambio si

se utilizan rayos X o Gamma, podremos observar que tanto las proteínas como los ácidos nucleicos han absorbido la misma cantidad de energía.

Cuando se irradia la materia con rayos ultravioleta podremos observar que la energía absorbida es almacenada en la molécula, la cual podrá sufrir disociaciones moleculares; o bien, se provocaran algunos fenómenos físicos como calentamiento, fluorescencia, etc,

Los fenómenos son distintos si la materia fue sometida a la acción de las radiaciones X o Gamma, en este caso los efectos se traducen en alteraciones dentro de la estructura del átomo. Podremos asumir que las radiaciones X o Gamma, utilizadas en terapia, tienen la energía suficiente para provocar ionizaciones. Este fenómeno proviene de que la energía absorbida por el átomo, provoca en el mismo un estado excitado, hasta que finalmente la energía es cedida a un electrón el cual es emitido con una cierta energía cinética, quedando el átomo ionizado. Este electrón, tiene la energía suficiente como para ir cediendo parte de la misma a otros electrones en su trayectoria, provocando repetidas ionizaciones, hasta que finalmente, cuando su nivel de energía es tal que no es suficiente para expulsar electrones es capturado por un nuevo átomo.

En general, con los aparatos de rayos X convencionales, se obtienen rayos de una energía entre 100 a 300 Kev, mientras que los rayos gamma que se originan del radio poseen una energía de 0.33 Mev,

Las energías de la radiación gamma proveniente de una fuente de Co^{60} es de 1,17 y 1,33 Mev.

Neutrones

Son partículas que entran como componentes normales de los núcleos atómicos, poseen una masa 1 y no tienen carga por lo tanto no pueden producir ionizaciones directamente.

Sin embargo son capaces de extraer protones de los núcleos de los átomos, a este fenómeno se debe casi exclusivamente los efectos biológicos, en la misma forma que los efectos de los rayos X son producidos por los electrones expulsados.

La composición elemental juega un rol preponderante en el número de ionizaciones producidas por los neutrones, es así que para una dosis dada el número de ionizaciones en un gramo de agua será 2, 5 veces mayor a las producidas en un gramo de aire,

Las ionizaciones producidas por los neutrones se concentran a lo largo de la corta trayectoria de los protones expulsados.

Los neutrones lentos no expulsan protones pero son capturados por los núcleos que atraviesan, provocando la formación de un nuevo núcleo que puede ser radiactivo, en tal caso se convertirá en emisión Beta o Gamma. Por otra parte hay que señalar que durante la captura hay emisión de rayos Gamma.

5° ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE UNIDADES DE DOSIS

a) Rad

Esta unidad se refiere a la dosis absorbida y corresponde a una absorción de energía igual a 100 ergios por gramo masa de la sustancia irradiada,

b) Rem

Corresponde a la cantidad de radiación ionizante que absorbida por un organismo produce un efecto biológico idéntico al producido en el mismo tejido por la absorción de un Rad de rayos X de 250 Kev.

Por lo tanto la dosis en Rem, queda determinada como sigue:

$$\text{Dosis en Rem} = \text{Dosis en Rad} \times \text{EBR}$$

Siendo EBR la eficacia biológica relativa, este factor esta determinado a su vez por el factor de calidad (FC) y por el factor de distribución (FD). Este último depende particularmente de la solubilidad o insolubilidad del radioelemento incorporado al organismo.

El FC está determinado en forma empírica y sus valores son los siguientes:

Para rayos X, Gamma y Beta 1, para neutrones térmicos 2,5 y para radiaciones Alfa naturales, Protones con energía mayor de 10 Mev y neutrones rápidos 10. La Eficacia Biológica Relativa (EBR) está definida por la siguiente ecuación matemática:

Dosis en Rad de rayos X de 250 Kev, para provocar un determinado efecto
Dosis en Rad, de la radiación investigada para provocar igual efecto.

Es importante tener en cuenta que la EBR dependerá también de la transferencia lineal de la energía, de la dosis promedio, la presencia o ausencia de oxígeno, las condiciones post irradiación, etc. Factores estos que deberán tenerse en cuenta en cada caso.

6. ACCION DE LAS RADIACIONES X O GAMMA EN SISTEMAS QUIMICOS

Habiamos visto que la absorción de la energía de las radiaciones X o Gamma provoca la expulsión de electrones de los átomos, estos electrones tienen suficiente energía como para provocar a su vez otras ionizaciones por sí mismos.

Quando la interacción entre el electrón y el átomo no es suficientemente grande se produce una excitación electrónica, es decir hay un desplazamiento de un electrón de su estado normal a otro de más alto nivel de energía, entonces se dice que el átomo está en estado excitado.

A medida que la partícula se desplaza, va perdiendo energía, hasta que finalmente no es capaz de producir más ionizaciones o excitaciones tales electrones pueden ser capturados por un átomo produciendo un ion negativo. Si se tiene en cuenta que cada electrón expulsado sufre la pérdida de energía en su trayectoria podemos concluir que se produce un ion negativo por cada ion positivo.

El desplazamiento de estos electrones, establecerá una determinada trayectoria en la materia donde los átomos habrán sido ionizados.

No debe dejarse de tener en cuenta que en la ionización de la materia, así como en la excitación, se producen productos intermedios por lo general de muy corta vida, estos son los llamados radicales libres. Los mismos son muy reactivos y se combinan entre ellos estableciendo un enlace químico al compartir sus electrones desaparejados. A su vez estos radicales podrán reaccionar con otras moléculas; o con el oxígeno molecular el cual, presenta algunas propiedades de los radicales libres ya que posee dos electrones desapareados. Sin embargo cuando el oxígeno reacciona con radicales libres orgánicos no da una molécula normal, sino un producto que tiene todavía, un electrón desapareado.

Una molécula orgánica, por acción de las radiaciones se comportará según el esquema que sigue: (figura 11)

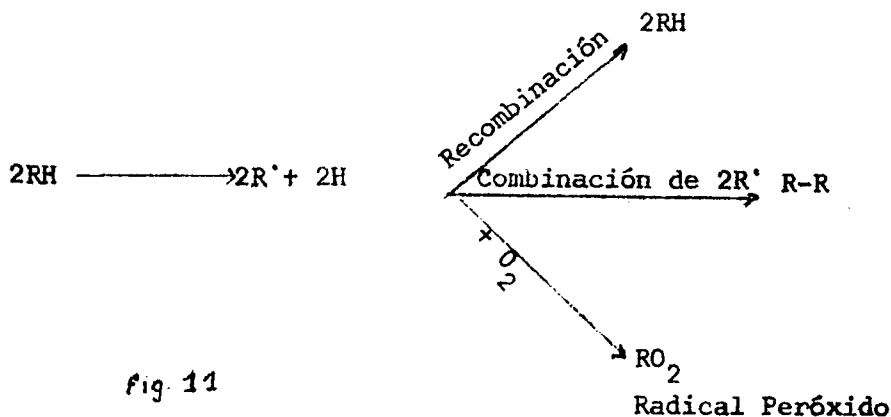


fig. 11

La reacción con el O_2 es muy importante pues impide la reacción de recombinación que regenera el producto original.

Los radicalés peróxidos en general originan un residuo orgánico.

a) Radiólisis del H_2O

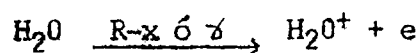
El agua participa en un 70 % en la constitución de los organismos, vivos pudiendo en algunos casos alcanzar valores de aproximadamente 95%, parte de la misma se encuentra incluida en grandes moléculas.

Se acepta que la exposición de un gramo de H_2O o tejido a 1 R da lugar a una absorción de energía de 96 ergios, para fotones de energía entre 0,1 y 2,5 Mev, o sea 598×10^{11} ev, por lo que la absorción de 1 r en H_2O o tejido podría llegar a producir aproximadamente 17×10^{11} pares de iones. Aunque debe considerarse que no toda la energía absorbida se utiliza en ionizar la materia, sino que parte de ella es disipada, desplazando un electrón de una capa a otra de mayor energía sin expulsarlo; dando origen a átomos excitados.

En 1944 trabajos de Weiss (13) sugerían la formación de radicalés H^0 y OH^0 como resultado de la descomposición de H_2O irradiada con rayos X.

Hoy se acepta que los principales iones que se forman en el H_2O por efectos de las radiaciones ionizantes son los siguientes: H_2O^- , HO^+ , H^+ y H_2O^+ aunque también se han reconocido en menor cantidad O^+ y H_2^+ .

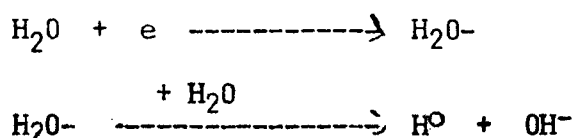
Se ha propuesto el siguiente mecanismo para interpretar la ionización del H_2O .



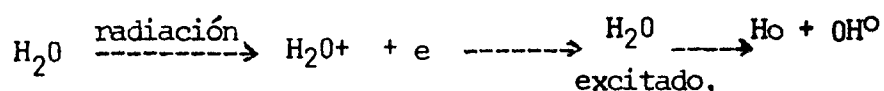
El ion H_2O^+ por efecto de hidratación se descompone como sigue:



A su vez si el electrón no tiene energía suficiente podrá ser capturado por el núcleo de otra molécula de H_2O .



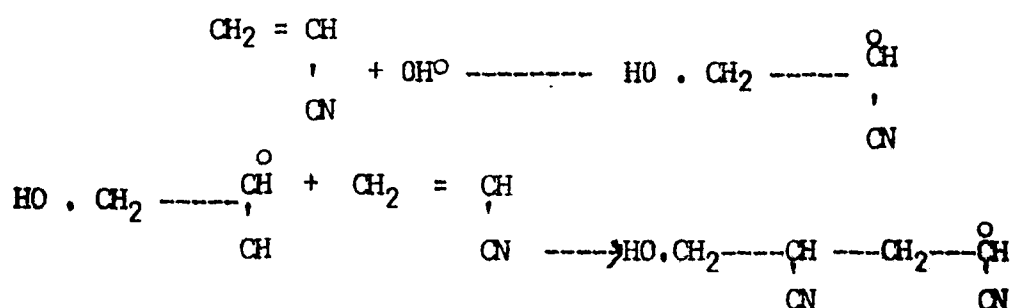
Este mecanismo explicaría la formación de dos radicales del H_2O : $H^{\bullet}$ y $OH^{\bullet}$ Samuel y Col. (11) sugieren que el electrón pierde rápidamente su energía en sistemas acuosos quedando atrapado por el campo atómico, por lo tanto a una distancia relativamente pequeña es/ atraído por un ion de H_2O^+ , formando H_2O fuertemente excitado y que genera radicales $H^{\bullet}$ y $OH^{\bullet}$.



Si esta teoría es cierta los radicales se forman a través de moléculas excitadas no interviniendo los iones. Cualquiera sea el mecanismo seguido podemos concluir que la radiación del H_2O provoca la formación de los radicales $H^{\bullet}$ y $OH^{\bullet}$.

Es de interés recordar que a pesar que los radicales libres no poseen cargas eléctricas su vida en general es muy corta y tienden a reaccionar, con las otras sustancias del medio, alterando así su composición original. En el agua la vida media de un radical libre es del orden de 10^{-6} seg.

Daiton (15) comprobó la formación de radicales $OH^{\bullet}$ al irradiar en medio acuoso acrilonitrilo el que se polimerizó mediante el siguiente mecanismo:

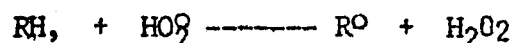


Otra reacción típica de los radicales $\text{OH}^\bullet$ es la eliminación de hidrógeno de moléculas orgánicas.



El radical $\text{H}^\bullet$ puede reaccionar con el O_2 para dar un radical fuertemente oxidante $\text{HO}_2^\bullet$.

A su vez este radical puede sustraer átomos de H de sustancias orgánicas.



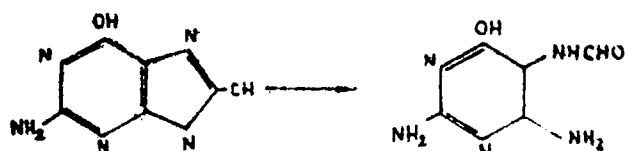
Una reacción que puede ser de gran trascendencia biológica es la desaminación de los aminoácidos cuando los mismos son irradiados en medios acuosos. En estas reacciones no parece tener influencia la presencia del O_2 . El mecanismo más probable para esta reacción es el siguiente:



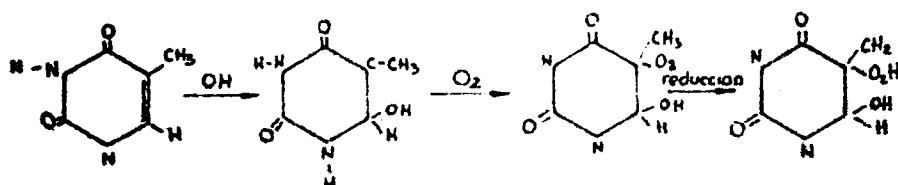
Esta reacción se produce en los alfa aminoácidos.

Otras sustancias de gran importancia en la economía celular y que pueden ser alteradas, son las bases púricas y pirimidínicas.

Así la irradiación de la guanosina provoca una ruptura del anillo imidazólico.



Las pirimidinas dan hidroperóxido.



b) Efectos de las radiaciones en macromoléculas

Si bien hasta el momento no se conocen con exactitud los mecanismos físicos primarios que llevan a la ruptura de un enlace químico en una macromolécula, es de gran interés biológico analizar los productos finales que se producen como resultado de la alteración de la misma, que pueden llegar a la pérdida de la actividad biológica.

Las transformaciones que puede sufrir una macromolécula por efecto de las radiaciones ionizantes, seguirán en definitiva algunos de los mecanismos ya descritos, con formación de radicales libres, si la energía de radiación, se disipa directamente en la misma, o también, podrá ser alterada al reaccionar con algunos productos resultantes de la acción de las radiaciones en moléculas vecinas.

Experiencias efectuadas con radiación Alfa en proteínas de peso molecular conocido, han demostrado, que uno de los efectos de las radiaciones es la disociación en fragmentos de la molécula, que no vuelven a unirse

(escisión de la molécula) (19). Este tipo de fenómeno, es provocado por acción directa y por ser muy específica, se supone que es consecuencia de la energía absorbida en un punto cualquiera de la molécula ya que la probabilidad que se produzca una ionización repetidamente en un lugar determinado es muy baja, se puede suponer en consecuencia, que hay una emigración de los radicales libres dentro de la cadena, de un carbono a otro, posibilitando de esta manera la formación de enlaces transversales.

La rotura de la cadena principal, llevará a un cambio en el peso molecular y en la viscosidad de la molécula, pero lo que es más importante, provocará cambios en la actividad biológica.

Otro de los fenómenos que puede alterar las propiedades de una proteína, es la oxidación de los enlaces disulfuro de las moléculas de cistina, que se desbloquean cuando la proteína es desnaturalizada.

a) Alteración de la estructura secundaria

La configuración estérica en cadenas macromoleculares como las proteínas, el ADN, etc. se mantiene mediante enlaces hidrogenados; la radiación puede romper estas estructuras secundarias.

Trabajos de Platzman y Frank (20) han calculado que en las cercanías de una ionización se parten un cierto número de enlaces de hidrógeno, afectando la estructura secundaria de la proteína.

EFFECTO DE LAS RADIACIONES EN LOS ACIDOS DESOXIRIBONUCLEICOS (ADN)

Uno de los fenómenos más notables provocados por las radiaciones es la disminución de la viscosidad. (Sparrow y Rosenfal (21), Buther (22). Este fenómeno se sigue produciendo después de un tiempo en que la irradiación ha sido suministrada, Greenstein Taylor y Hollander (23). Se ha comprobado que esta disminución de la viscosidad puede ser provocada por los radicales $\text{OH}^\bullet$ libres en el medio. Estos oxidan la cadena principal en las uniones pentosa-fosfato produciendo roturas en las mismas, para que esta reacción sea evidente es necesario la ruptura simultánea de ambas cadenas y a un mismo nivel.

Weiss (24) y Hems (25) comprobaron que las radiaciones destruyen las bases pirimídicas y púricas siendo las primeras notablemente más sensibles que las segundas.

Todos estos fenómenos hasta aquí descriptos corresponderían a la acción directa de las radiaciones.

La acción indirecta de las radiaciones sobre el ADN, provoca también la ruptura en la cadena principal, pudiendo los restos resultantes de estas rupturas, combinarse con los restos de las cadenas vecinas formándose enlaces transversales; que llevan a una alteración de la secuencia de los nucleótidos, originando a su vez la alteración del código. Como puede observarse en la figura (12), la combinación de restos de la cadena (a) con otros de la (b) señalada con líneas punteadas altera la secuencia de nucleótidos, así la cadena (a) cuya secuencia era: ATC se ha transformado en AAG, esto podrá llevar a la síntesis de un mRNA con una codificación equivocada de la información y consecuentemente a la síntesis de proteínas extrañas a la célula.

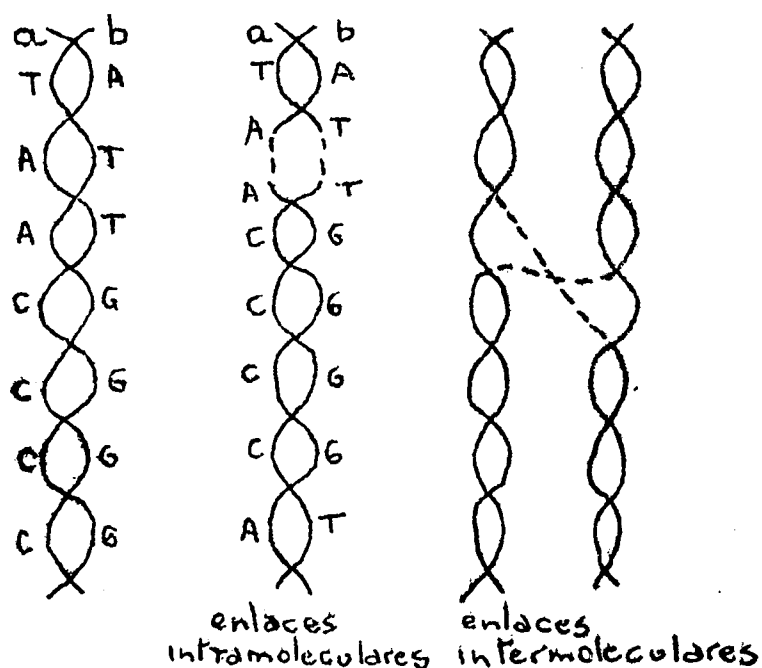


fig 12.

Las roturas producidas en la cadena darán lugar a un producto heterogéneo. Como consecuencia de estas rupturas provocadas en una molécula, podrán establecerse enlaces transversales, los mismos pueden hacerse entre moléculas diferentes (intermolecular), o en la misma molécula (intramolecular). Este último tipo se produce sobre todo en moléculas flexibles.

Los enlaces intramoleculares pueden producirse muy fácilmente en moléculas como el ADN que es una molécula flexible, estos enlaces provocan un enrollamiento de la molécula, la cual al ocupar un volumen más pequeño aumenta su viscosidad.

a) Cambios en el ADN después de la irradiación in vivo

Trabajos realizados por ORD y Stock (26), irradiando timocitos de rata con 2.000 r, indican que no se observan cambios en el peso molecular y en las dimensiones moleculares del ADN, sin embargo la distribución cromatográfica de esta sustancia se ve modificada.

No obstante, se admite en general, que en irradiaciones in vivo aún después de altas dosis no se observan cambios inmediatos, es muy posible que las transformaciones que se producen no sean detectables. En cambio el análisis del ADN después de un tiempo de la irradiación acusa transformaciones con dosis superiores a 1.000 r. (27).

b) Consecuencias del cambio del ADN en la célula y el organismo

Hemos visto que el ADN representa la matriz para la síntesis del mRNA y por lo tanto el punto de partida para la síntesis proteica.

Por otra parte las funciones celulares están ejercidas por una

única molécula de esta sustancia, la misma solo se duplica durante la división celular, siendo este el mecanismo por el cual las células hijas reciben todos los caracteres de las células padres. Es decir que un normal funcionamiento celular requerirá que esta sustancia se mantenga intacta, la alteración de la misma provocará una disminución de la síntesis proteica, proteínas anormales y la falta de una determinada proteína. Esto implica que el daño producido en la molécula de ADN, tendrá un efecto mediato de mucha trascendencia en la vida celular. Tal efecto podría traducirse en la falta de diferenciación celular, llegando a ser fatal para la célula.

EFFECTO DE LAS RADIACIONES EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO

El material embrionario representa una valiosa ayuda para los estudios radiobiológicos, ya que se presenta como un sistema dinámico y armónico en el que las alteraciones fisiológicas y bioquímicas pueden surgir con bastante exactitud la lesión primaria,

Es de gran interés a fin de interpretar los posibles daños provocados en la célula por las radiaciones ionizantes; analizar algunos efectos conocidos en las células genitales y embrionarias.

a) Irradiación de gametos

La irradiación de ovocitos después de la anfimixia, provoca un desarrollo embrionario con alto porcentaje de células haploides, que aumentan con la dosis de irradiación suministrada (Hertwig 28) - Packard (29). Otro fenómeno muy observado después de la irradiación de ovocitos, antes de la fecundación, es un retardo en la aparición del primer surco, el que se reduce si se deja transcurrir un lapso de tiempo entre la irradiación y la fecundación (Henshaw (30) Henley (31). Este fenómeno, que parecería una reparación de la lesión sufrida, en realidad no lo es, ya que no aumenta el número de embriones con desarrollo normal.

Estudios efectuados por Blun y Cal (32) establecieron que las alteraciones provocadas por la irradiación en el núcleo celular eran responsables directas de los fenómenos que aparecen posteriormente.

El retardo en la mitosis podría interpretarse como una consecuencia del bloqueo transitorio de la síntesis proteica.

b) Irradiación de ovocitos fecundados

En el análisis de estos fenómenos deberán tomarse en consideración algunos parámetros:

- a) El estadio embrionario que se somete a la acción de las radiaciones.
- b) El tiempo de exposición a las radiaciones.
- c) La dosis total de radiación administrada.

Estudios realizados por diferentes autores, han demostrado que existe una muy notable diferencia de conducta frente al daño provocado por radiación, entre los diferentes estadios embrionarios.

Estas diferencias hacen que las manifestaciones funcionales o morfológicas, puedan presentarse diferidas en el tiempo en algunos estadios embrionarios con respecto a otros.

Teniendo en cuenta estas evidencias experimentales se ha llegado a establecer un orden de sensibilidad a las radiaciones (33), (34).

- a) Según el estadio embrionario se puede establecer un orden de sensibilidad a las radiaciones.
- b) El tiempo en que se suministra una determinada dosis, adquiere gran

importancia, si se tiene en cuenta que la radiación será más o menos eficaz según la fase mitótica en que se encuentra la célula. En efecto, si la dosis administrada abarca varias fases mitóticas, los fenómenos posteriores pueden ser muy diferentes a los observados cuando se irradia, con igual dosis, pero en tiempo mucho más corto y que interesan sólo una fase mitótica. Hay que tener en cuenta aquí que el período de Interquinesis es particularmente sensible a las radiaciones, como dijimos anteriormente, este período de la división celular se destaca por su gran actividad bioquímica.

Trabajos de Cather (35), demuestran también que la radiación en telofase es la que acusa mayor retardo en la segmentación. Debemos recordar que el estadio de telofase es el inmediato anterior al de la interquinesis.

c) La dosis administrada juega un papel muy importante, pues las alteraciones se manifestarán dentro de ciertos límites en estadios más o menos tardíos según la dosis de irradiación administrada. (36) y (37). Es muy notable la resistencia que presenta a las radiaciones los estadios anteriores al de blástula (36) y (37).

Por otra parte se conoce que la síntesis del ARN nuclear y del ARN mensajero adquiere relieves importantes durante y después del estadio de blástula (38), (39) y (40).

Otras observaciones, han llevado a nuevas evidencias, que demuestran que el desarrollo embrionario en anfibio es capaz de alcanzar el estadio de blástula final, a pesar de haberse bloqueado la síntesis de ARN por acción de la actinomicina D. (34,35 y 36).

Estos conceptos actuales, indican que el ovocito provee toda la información genética necesaria, para que se logre el desarrollo hasta el estadio de blástula final, en otras palabras, que la influencia del núcleo celular en el desarrollo, se manifiesta recién después del estadio de blástula. Neyfakh (36 y 37).

Si se altera por efecto de las radiaciones ionizantes, moléculas

del tipo del ADN, se observará una detención del desarrollo después del estadio de blástula. Como lo demuestran los estudios realizados por Neyfakh (37), y particularmente los realizados por Mariano (36), quien comprueba que la exposición de embriones a la irradiación Gamma 50 minutos después de la fecundación, provoca una detención del desarrollo en el estadio de blástula final, fig. 13, y que esas blástulas, presentan una disminución de la síntesis del ARN mensajero, el cual muestra una composición de bases completamente alterada, fig. 14 y 15. Este último fenómeno provoca una síntesis de proteínas anómalas, inútiles para los requerimientos de diferenciación que se operan durante la gastrulación.

Las alteraciones en el ARN mensajero, serán sin duda, consecuencia de las alteraciones sufridas por el ADN.

IRRADIACION - CRECIMIENTO - DIFERENCIACION Y MULTIPLICACION CELULAR

Todas las manifestaciones observadas en las células embrionarias, se reproducen en las células de otros tejidos con mayor o menor frecuencia en intensidad, según la dosis administrada y el estado de diferenciación en que se halla el tejido comprometido.

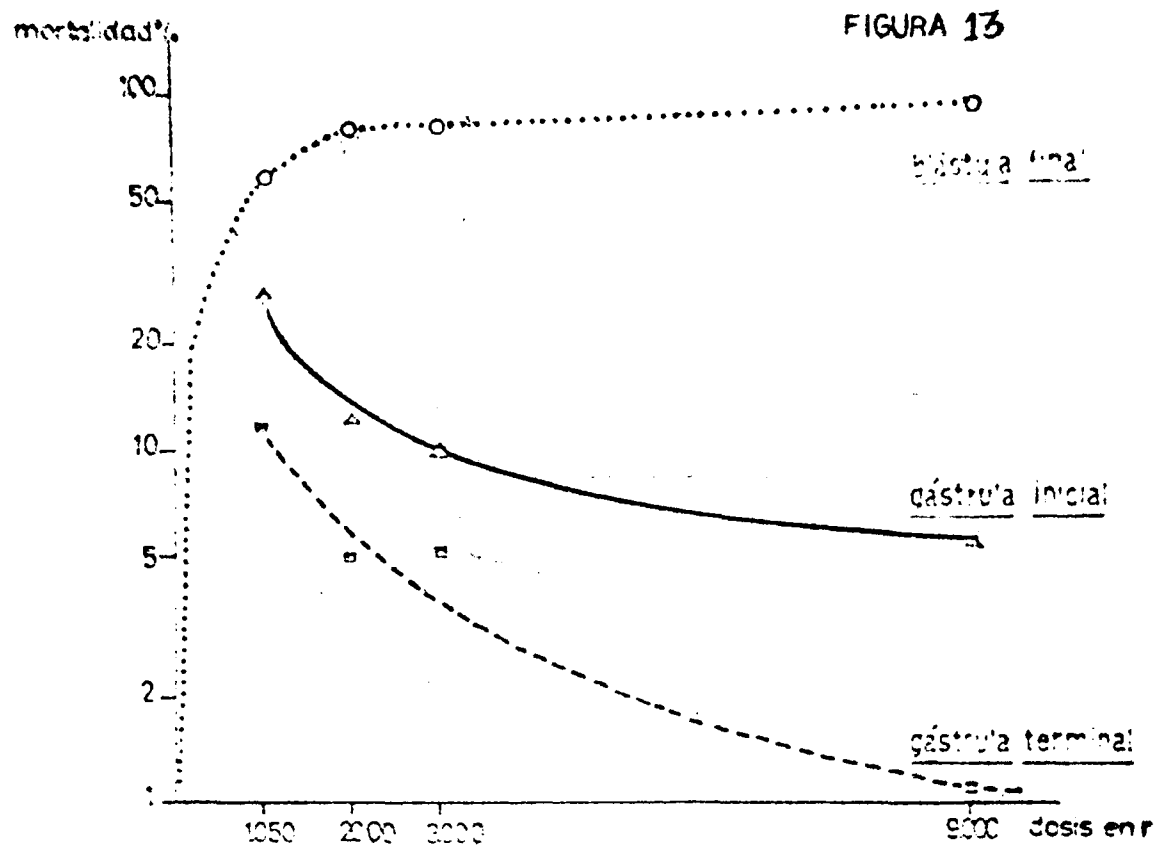
Tres son las manifestaciones más frecuentes del efecto de las radiaciones en los tejidos.

Retardo en la división celular. Muerte de la célula después de algunas divisiones. Muerte inmediata de la célula.

Retardo en la división celular:

Este es un fenómeno muy frecuente de observar, (36) (44) (40) (41) (42) (43) (45) en general la mayoría de los autores coinciden, que el retardo en que se verifica la citodiéresis depende de la fase del ciclo mitótico en el cual se suministra la radiación, señalándose como período más sensible el anterior a la profase (44). Poco se sabe sobre el mecanismo químico que

FIGURA 13



exp. nº	RNA extraído a 45°		RNA extraído a 65°	
	N	I	N	I
1	0.068	0.090	0.372	0.076
2	0.00078	0.0153	0.0093	0.0031
3	0.0061	0.0093	0.0130	0.0040

FIGURA-14

Actividad específica de las diferentes

fracciones de RNA expresadas en ac/100

N)- Blástulas provenientes de cigotos normales.

I)- Blástulas provenientes de cigotos irradiados.

exp. nº	%CMP		%AMP		%GMP		%UMP		$\frac{G+C}{A+U}$		G+C	
	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I
1	16.2		38.5		28.5		16.8		0.81		44.7	
2	15.2		37.0		27.8		18.0		0.78		43.0	
3	14.3	7.8	44.1	30.5	29.8	29.7	14.8	31.9	0.79	0.60	44.1	37.5

fig. 15- Composición de bases del RNA extraído con fenol a 65°C N) Blástulas de cigotos normales - I) Blástulas de cigotos irradiados.

lleva a esta manifestación a esta manifestación morfológica y sólo podemos tratar de establecer un silogismo si tenemos en cuenta aquellos estudios (47) (46) que dejan suponer que la síntesis proteica será esencial no sólo para la duplicación celular en su parte plástica, sino también en algunos eventos que controlan específicamente la mitosis. Es decir que la inhibición de la síntesis proteica en algunas de sus etapas, estaría involucrada en el retardo mitótico provocado por la irradiación (48 y 49). Es posible que la disminución del tenor de enzimas, que se encuentran comprometidas en la síntesis proteica, sea la causa del retardo mitótico, en este caso el mecanismo se normalizaría al transcurrir cierto tiempo. Esto estaría en acuerdo con lo encontrado por Kelly (49). Van Lancker (50) quienes demuestran que la radiación puede retardar la división de algunos tipos de células, sin causar una mensurable inhibición de síntesis de ciertas macromoléculas. Esto lo confirman los trabajos de Rao y Coll (45) quienes no encuentran inhibición de síntesis ADN en células irradiadas. Según Alexander (51) la inhibición de la mitosis es un fenómeno más radiosensible que la síntesis del ADN.

Cabe señalar que este fenómeno, se presenta en algunas células, después de suministrar algunos pocos rads y en otros, es necesario dosis superiores a los 10.000 rads. La recuperación de dichas células, estarán ligados al metabolismo celular.

En algunos casos la falta de división celular, puede llevar a originar células gigantes cuyos volúmenes pueden llegar, a ser varias centenas de veces mayor que el normal.

MUERTE CELULAR

La muerte celular por irradiación, puede producirse inmediatamente después de algunas divisiones celulares, esto nuevamente estará supeditado a la dosis de radiación administrada y al estadio fisiológico de la célula durante la irradiación. En algunos casos, el factor desencadenante de la muerte celular, se pone recién de manifiesto después de varias divisiones celulares, como se pudo observar en la irradiación de embriones descripta anterior-

mente.

Podemos asumir, que las células con gran actividad son mucho más sensibles que las células en reposo, sin embargo, las células ováricas y los linfocitos son mucho más sensibles cuando están en período de reposo.

La dosis requerida para matar una célula, es muy variable y oscila entre los 10.000 rad para algunas células en reposo y 100 r para los linfocitos.

FACTORES QUE MODIFICAN LA ACCION DE LAS RADIACIONES

Es interesante señalar, que ciertas condiciones físicas pueden influir en la acción de las radiaciones, así, el descenso de la temperatura, figura 16, puede atenuar el efecto de las mismas, aunque en algunos casos sólo se consigue prolongar el período de aparición de los efectos, posiblemente por un retraso de los procesos metabólicos. La anoxia parcial disminuye la radiosensibilidad de la célula, sin embargo, es conveniente tener en cuenta, que el papel que desempeña el tenor de oxígeno en el medio, no se pone en evidencia cuando se trata de radiaciones altamente ionizantes (figura 17).

Otros factores tales como la hidratación, los rayos infrarrojos, la presencia de agua oxigenada en el medio, influyen aumentando los efectos de las radiaciones.

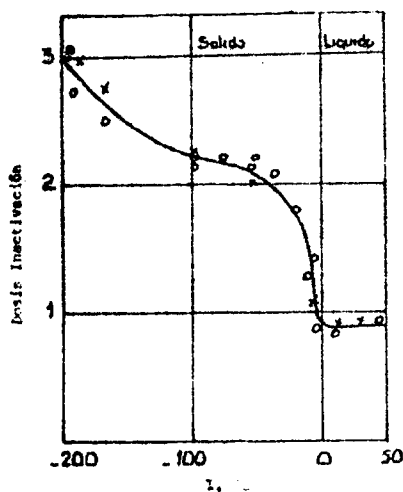


fig. 16. Efectos de la temperatura en la radiosensibilidad en *E. Coli* con R-X de 30 Kev-Bacq y Alexander

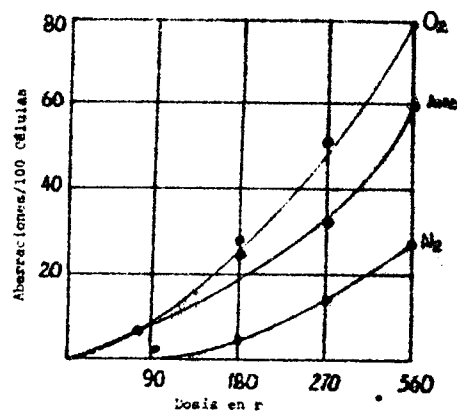


fig. 17. Relación de la frecuencia de aberraciones en microsporos de *Tradescantia* a diferentes dosis de R-X en ambiente de O₂, aire y N₂ Giles y Riley 1949

MANIFESTACIONES MORFOLOGICAS CELULARES MAS SOBRESALIENTES

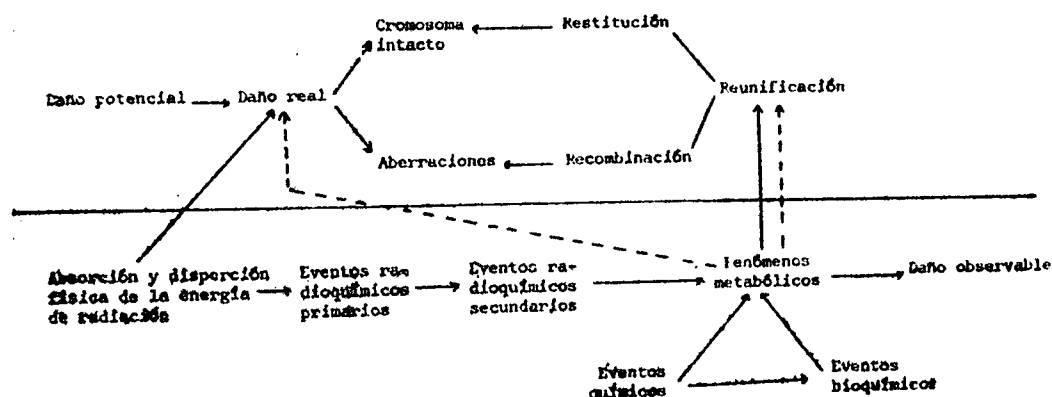
Se ha podido observar en células irradiadas, aumento de volumen del núcleo y del citoplasma, presencia de vacuolas y en las células en proceso de reproducción, roturas cromosómicas.

Quando ciertas estructuras nucleares, tales como los cromosomas, son alteradas como consecuencia de los efectos de las radiaciones ionizantes, se provocan mutaciones, que si se trata de células somáticas, posteriormente se manifiestan como lesiones somáticas, mientras que si se trata de células germinales tales mutaciones se manifestarán en generaciones sucesivas. Las mutaciones en general persisten y sólo pueden desaparecer por un proceso de selección o por mutaciones regresivas, hecho este último, que se observa muy raramente.

Las mutaciones son las manifestaciones morfológicas a distintos niveles, de las alteraciones provocadas por las radiaciones en el código químico de información genética.

Cabe señalar, que las roturas de cromosomas provocadas por las radiaciones ionizantes no son específicas.

El concepto general sobre los mecanismos por los cuales se desencadenan las alteraciones cromosómicas, puede resumirse en el esquema siguiente propuesto por (Karl, Hall y Sax) (53).



MAGNITUD DEL EFECTO

La dosis, intensidad y calidad de la radiación, son los principales factores que determinan la magnitud y tipos de fenómenos físicos provocados por radiación, es así, que la irradiación con partículas alfa, induciría a un modelo diferente de eventos, que la radiación X o Gamma.

Los fenómenos radioquímicos primarios, se refieren a los efectos de las radiaciones en el agua u otras moléculas, donde la energía es absorbida en forma directa, en este caso la concentración parcial de oxígeno en el medio parecería jugar un papel muy importante.

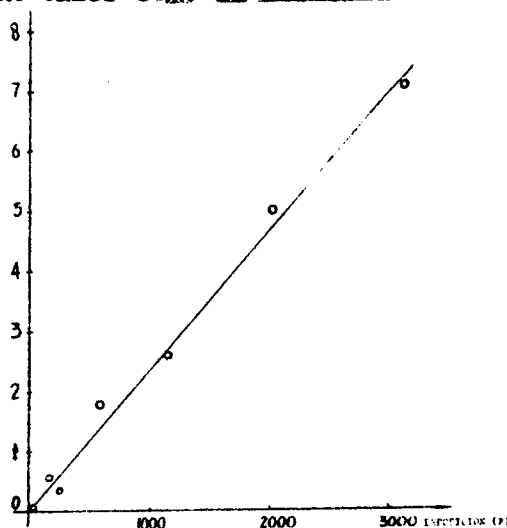
Los fenómenos radioquímicos secundarios, involucran la producción de productos de vida corta, tales como los originados por la descomposición del agua y los peróxidos de vida larga, que siguen actuando durante un tiempo después de la irradiación.

A estos efectos primarios le siguen algunos procesos metabólicos que finalmente desencadenan los daños morfológicos y fisiológicos observables.

INFLUENCIA DE LA DOSIS EN LOS EFECTOS DE RADIACION

Quando se trata de efectos genéticos, la gravedad de la lesión guarda una relación lineal con la dosis (54) figura 18. Esto significa que dosis muy ligeras pueden provocar lesiones genéticas, Podemos aceptar, por lo tanto, que no existe dosis umbral para inducir un daño genético, ya sea en células germinales o somáticas. En este concepto quedarían incluidas ciertas afecciones provocadas por radiación tales como la leucemia.

fig. 18. Frecuencia de letalidad en espermatozoide de *Drosophila*
Kuzin A.M., Shapiro U.I. - Moscú 1964



Para los efectos genéticos no tiene importancia el intervalo en que se administra una dosis de radiación dada. Sin embargo no debe dejarse de considerar lo dicho anteriormente sobre las ventajas de administrar una determinada dosis en un tiempo tal que comprenda el estadio más sensible de la célula o tejido.

EFFECTOS DE LAS RADIACIONES EN TEJIDOS

Hasta aquí se han analizado los efectos de las radiaciones en las células, cuando se irradia un tejido no todas las células presentan el mismo grado de sensibilidad, en la explicación de estos hechos, están involucrados los conceptos vertidos anteriormente referentes al período fisiológico, en que cada célula componente del tejido es sorprendida por la irradiación.

Hemos descripto anteriormente que en un sistema biológico, como el desarrollo embrionario, las células que fueron irradiadas en el estadio de cigote, abortan su desarrollo recién cuando llegan al estadio de blástula, es decir, en el momento en que su evolución depende exclusivamente de su propia codificación genética, que había sido alterada mucho antes por la irradiación.

Esto nos sugiere, que aquellos tejidos que se encuentran menos diferenciados, o que se encuentren, en un proceso de regeneración o crecimiento celular y que su evolución dependa de mecanismos fisiológicos que involucren sustancias alteradas por la radiación, serán los más sensibles, es así como se manifiesta en la práctica, observándose cambios morfológicos más rápidos en los órganos hematopoyéticos, intestinos, gonadas, siguiéndole en orden decreciente de sensibilidad, los vasos sanguíneos, el cristalino, el sistema nervioso, los músculos y los tejidos conjuntivos.

Es necesario aclarar que la menor sensibilidad de un tejido, se refiere aquí, al tiempo que tarda una lesión en aparecer, es lógico pensar que las lesiones radioquímicas primarias y secundarias, se produzcan en todos los tejidos por igual, sólo que, aquellos que tienen una mayor actividad fun-

cional, las manifestaciones fisiológicas de la lesión se pondrán de manifiesto antes.

Existen grandes diferencias entre las dosis necesarias para lograr cambios anatómicos o funcionales, o provocar la muerte en distintos tejidos u órganos, así mientras que, con dosis mayores a dos rads, se puede observar una letalidad de los linfocitos del 15%, para otros tejidos de mamíferos, las dosis necesarias, en animales de experimentación, para provocar alteraciones, difieren notablemente como se describe a continuación: (54).

Retina: 15 rads son suficientes para provocar la formación de cataratas.

Embrión: dosis superiores a 30 rads producen una disminución del desarrollo fetal, que en algunos casos pueden traducirse en la muerte intrauterina.

Bazo y timo: con dosis que superan los 60 rads pueden observarse pérdidas en el peso de dichos órganos.

Intestino: estudios realizados en ratas indican que superando los 100 rads, se observa pérdida de peso.

Hígado: dosis superiores a 900 rads producen daños hepáticos.

Páncreas: daños en esta glándula pueden ser observados recién después de superar los 5.000 rads.

Efectos letales en organismos

La radiosensibilidad, expresada como la sobrevida del 50% de los animales 30 días después de irradiados (LD 50/30), indican que las dosis difieren para cada organismo; en los mamíferos, las dosis pueden variar desde unos 400 a 800 rads, siendo para el hombre aproximadamente 500 rads. Teniendo en cuenta las dosis en tejido, cabe señalar, que algunas partes del or

ganismo pueden soportar dosis de irradiación mucho más elevadas, concepto este muy útil en la aplicación de la radioterapia.

IRRADIACION PARCIAL DEL ORGANISMO

En general, podemos aceptar, que la dosis total media LD 50 es más baja que las dosis que pueden ser toleradas por parte del organismo. Sin embargo, cabe destacar que no todos los órganos presentan la misma tolerancia a la irradiación y que en algunos de ellos la dosis máxima se aproxima a la señalada para la irradiación total del organismo.

Hay que tener en cuenta, que las alteraciones provocadas en diferentes partes del organismo, se suman para configurar el síndrome de radiación.

Es muy difícil de apreciar, los efectos de las dosis bajas en el organismo, debido a la contribución de las radiaciones naturales a que está expuesto (radiaciones cósmicas y algunos elementos radioactivos fijados en el mismo). Un análisis de este tipo, exigiría un estudio en una población muy grande del individuo, para llegar a tener algún significado. Por otra parte sería muy difícil diferenciar de los efectos provocados por otros agentes.

Formación de cataratas:

La opacidad de la retina, seguida de formación de catarata, se provoca en el hombre con dosis locales de 200 rads. La importancia de la lesión, como el tiempo de desarrollo de la misma, depende de la dosis administrada (55).

El fraccionamiento de la dosis, disminuye la incidencia de esta anomalía y retarda su aparición.

Lesiones en la piel:

Una de las primeras manifestaciones que siguen a la irradiación de la piel, es la aparición de Eritemas. Esta reacción, que aparece entre los 500 y 1000 rads, fue utilizada durante largo tiempo como dosímetro biológico.

Otra manifestación en la piel, es la depilación, que se presenta entre los 13 y 17 días después de haber sido sometida a dosis superiores a 200 rads, el pelo puede crecer nuevamente después de algunos meses, según la dosis administrada. Con dosis de 2.000 rads la depilación es permanente (56).

Formación de ampollas:

Cuando la piel ha sido sometida a dosis mayores de irradiación, toma un color violáceo oscuro, formando ampollas acuosas. El paciente sufre pruritos y dolores en la zona, experimentándose la caída del pelo entre los 15 y 20 días después, la depilación es generalmente permanente.

La recuperación es muy lenta y la piel adquiere algunos aspectos característicos; tales como menor pigmentación, sequedad y visualización de vasos sanguíneos de color rojo.

Necrosis:

Con dosis de 3.000 rads o mayores, entre el 3er y 4to día, aparece un enrojecimiento de la piel, presentándose ulceraciones y absesos, siendo la cicatrización de las lesiones muy lenta, en las zonas de mayor irrigación las cicatrices persisten y como consecuencia de la destrucción de las glándulas sebáceas y sudoríparas, la piel se seca. (57).

Sistema gastro intestinal:

Las lesiones son producidas con dosis pequeñas de radiación, siendo una de las primeras manifestaciones algunos trastornos fisiológicos funcionales típicos, tales como la alteración de la movilidad y la secreción de jugos digestivos.

La secreción ácida y de pepsinas, pueden quedar interrumpidas. transitoria o permanentemente, por dosis relativamente grandes de irradiación.

Las ulceraciones provocadas por la irradiación, pueden conducir a infecciones localizadas, de las que pueden ser responsables bacterias que normalmente están en intestinos. Es decir, se rompe el equilibrio natural que existe entre un organismo huésped y los organismos parásitos. La infección puede extenderse, al pasar los microorganismos al torrente circulatorio, provocando trastornos sépticos graves.

Como resultado de las lesiones producidas, puede provocarse una pérdida incontenible de fluidos corporales a través de la mucosa. Las dosis requeridas, que pueden producir lesiones graves en este sistema, tienen un umbral elevado.

Organos hematopoyéticos:

Estos tejidos están distribuidos por todo el organismo. Se caracterizan por ser uno de los tejidos, en donde los efectos de la radiación, se manifiestan después de un intervalo más corto. Es notable que después de dosis pequeñas de irradiación (menor de 100 rads), se puede observar una linfopenia temporal, con el aumento de la dosis de radiación, la linfopenia se hace más pronunciada y la duración de la misma es más prolongada.

Las lesiones más frecuentes, en la médula ósea, se producen en las células jóvenes en proceso de maduración. La primera manifestación que se presenta en este tejido, está dada por un aumento de jóvenes de ambos tipos, rojas y blancas, pero con dosis mayores la acción de las radiaciones se traduce en una destrucción del tejido medular. El tejido puede recuperarse después de un tiempo; el que puede oscilar entre una y dos semanas, según la dosis de radiación recibida, siendo la recuperación de la leucopoyesis más rápida que la de la eritropoyesis.

El examen de la sangre periférica acusa las siguientes manifestaciones:

1º LEUCOCITROSIS: Provocada como consecuencia de una liberación de leucocitos por la médula osea. Este fenómeno se presenta inmediatamente después

de la irradiación.

2° LEUCOPENIA: La que será más pronunciada y de duración más prolongada a medida que la dosis de radiación sea mayor.

3° NEUTROPENIA: Aparece con dosis superiores y su evolución hacia los valores normales de neutrófilos, es índice de buen pronóstico.

4° EOSINOFILOPENIA: Sólo se provoca con dosis muy grandes de radiación.

5° ANEMIA: La disminución de los hematíes, se presenta después de dos o cuatro semanas, como consecuencia de grandes dosis de radiación, en casos extremos, este proceso puede convertirse en anemia aplástica.

Otras manifestaciones que pueden registrarse en sangre periférica, son una disminución de trombocitos y reticulocitos, que se presentan a menores dosis y antes que la anemia. Es también importante destacar la tendencia a las hemorragias, que se observan por la falta de plaquetas, en muchas radiopatías.

GONADAS:

ESTERILIDAD:

Bajas dosis de radiación pueden provocar marcados efectos en las glándulas sexuales. Es interesante el hecho que, para provocar efectos comparables en tiempos similares, los niveles de dosis son mucho más bajos en el hombre que en la mujer. Dosis de 25 a 30 rads en testículos, pueden provocar alteraciones transitorias de la fertilidad. Efectos similares pueden lograrse en la mujer cuando la dosis de radiación es aproximadamente de 300 rads. (59 y 58).

En el hombre puede provocarse una esterilidad transitoria, durante 1 a 2 años, con dosis de 250 rads (61) La dosis requerida para producir este sterilidad permanente, son 600 y 800 rads, para el hombre y la mujer respectivamente (61).

Mutaciones:

Otros de los efectos de las radiaciones, sobre gonadas, es la inducción de mutaciones como consecuencia de la acción de las radiaciones sobre las células germinales. Este tipo de alteraciones, son permanentes, pues las probabilidades de retromutación son muy escasas. Para este tipo de fenómeno no existe dosis umbral; las dosis son acumulativas y las manifestaciones pueden aparecer después de muchas generaciones. Se ha estimado entre 10 a 100 rads., la dosis requerida para duplicar el número de mutaciones en el hombre. Las alteraciones genéticas provocadas por la irradiación, podrán tener diferentes manifestaciones, tales como: mal formaciones, alteración de la duración de la vida, de la inteligencia, de la fertilidad, etc. (62).

ESQUELETO:

Dosis de 100 rads, en individuos en crecimiento, provoca una cesación de los mecanismos de osificación, dosis de varios miles de rads producen necrosis de los huesos (64,63). Es necesario señalar aquí, que la mayoría de lesiones observadas en huesos, son consecuencia de tratamientos incorrectos de radioterapia o por la incorporación de radionucleidos en los huesos, tal incorporación, se realiza en la epífisis de los mismos. Este hecho coincide con la incidencia de tumores oseos, los que se localizan principalmente en la metáfisis de los huesos largos.

SISTEMA NERVIOSO:

Dado el grado de diferenciación que presenta el tejido nervioso, se creyó que podría suministrársele grandes dosis de radiación, ya que en el examen morfológico no se observaba ninguna alteración después de haber sido sometido a la irradiación con grandes dosis. El estudio de la excitabilidad y de los reflejos condicionados, muestra que dosis relativamente bajas, son capaces de provocar alteraciones en estas funciones.

Es necesario tener en cuenta, que la memoria animal, opera através de mecanismos similares a los de la memoria celular; desde este punto de vista, podemos decir, que las células nerviosas están en un continuo proceso de diferenciación bioquímica, siendo así, hay que tomar en consideración, que si

bien después de dosis relativamente grandes de radiación no se observan cambios histológicos, se podrá provocar, sin embargo, cambios funcionales, y alteración de aquellos mecanismos con dosis relativamente pequeñas.

Dosis de 300 a 400 r provocan en animales, alteraciones del electroencefalograma, y tales alteraciones pueden persistir durante una semana.

RIÑONES:

Dosis de 700 a 800 rads pueden provocar algunos trastornos funcionales pasajeros, grandes exposiciones pueden llevar, con el tiempo, a cuadros típicos de nefroclerosis con espesamiento de las arteriolas; hipertensión e insuficiencia renal.

OTROS ORGANOS: OJOS:

Algunos centenares de rads, inducen conjuntivitis en el hombre, 2000 rads provocan destrucción de los bastoncitos de la retina en el mono, 30.000 rads afectan morfológicamente todos los elementos de la retina (65).

GLANDULAS ENDOCRINAS:

10.000 rads son suficientes para provocar alteraciones histológicas en tiroides. Las radiaciones producen efectos no específicos en las glándulas suprarrenales, igual que otros agentes estresantes, esos efectos aparecen después que la glándula ha sido irradiada con algunos centenares de rads. (65).

Son característicos los efectos retardados de irradiación, después de intensas dosis, como por ejemplo la fibrosis progresiva de pulmón, los cambios en los vasos sanguíneos con destrucción de células parenquimatosas.

Algunas decenas de rads, en las primeras etapas del desarrollo embrionario, son suficientes para provocar graves anomalías. De las observaciones con los sobrevivientes a los bombardeos atómicos se comprobaron cierto número de casos de microcefalia como consecuencias congénitas.

Todas las dosis mencionadas, en relación a la irradiación de diferentes órganos y tejidos, se refieren a dosis integradas en un tiempo corto o sea con una dosis - tiempo elevada.

Con dosis fraccionadas la resistencia de los diferentes órganos y tejidos es mayor.

ENFERMEDAD AGUDA DE RADIACION:

Después de las experiencias de Hiroshima y Nagasaki se tuvo un conocimiento más completo de los síntomas típicos de la enfermedad de radiación. Estos síntomas aparecen después de la irradiación total del organismo con dosis superiores a 100 rads y con una dosis - tiempo elevada; la sintomatología se presenta entre algunos minutos y 60 días después de la exposición.

Según la dosis, las manifestaciones observadas pueden agruparse como sigue: (68 y 69).

Dosis ligeras: Hasta 25 rem. No se presentan signos clínicos detectables, probablemente no se presentarán efectos retardados.

50 rem: Se observan alteraciones pasajeras de la sangre, con esta dosis existen algunas probabilidades que presentan efectos retardados.

En el individuo de edad mediana hay poca probabilidad de aparición de trastornos graves retardados.

Dosis moderada: 100 rem: se presentan náuseas, fatiga, vómitos en dosis superiores a 125 rem. Se observan cambios considerables en el cuadro sanguíneo, en un primer momento se observará una ligera leucocitosis, que se transformará luego en leucopenia.

200 a 300 rem: En las 24 horas siguientes a la exposición, se presentan náuseas y vómitos.

Después de un período de latencia de alrededor de una semana se observa depilación, pérdida del apetito, flaccidez general.

En una pequeña proporción de individuos se observa desenlace fatal entre la 2º y 6º semana. Se observa reversibilidad del proceso y curación después de un mes, a menos que se presenten complicaciones por procesos infecciosos intercurrentes, o por un estado de salud anterior precaria. Existen algunas probabilidades que puedan aparecer efectos retardados.

DOSIS SEMILETALES:

400 - 500 rem: Con esta dosis se presentan nauseas y vómitos después de 1 a 2 horas. Después de un período de latencia de una semana se presenta depilación, pérdida de apetito, flaccidez general, acompañada de fiebre. Durante la 3º semana inflamación grave de la boca y garganta, hemorragias nasales y rápido desmejoramiento durante la cuarta semana. En algunos casos desenlace fatal entre el fin de la 2º y la 6º semana, después de un tiempo mayor en el 80 % de los casos (dosis LD50).

DOSIS LETALES:

Superior a 500 rem. El curso de la enfermedad es grave y el desenlace fatal en la mayoría de los casos. El cuadro clínico que se presenta suele ser el siguiente:

- 1º Nauseas y vómitos después de 1 a 2 horas.
- 2º Breve período de latencia
- 3º Linfocitopenia después de las primeras 24 a 48 horas.
- 4º Rápida caída de granulocitos que está presidida de un discreto aumento de estos elementos en el primer día.
- 5º Diarreas, vómitos, inflamación de la boca y la garganta hacia el final de la primera semana.
- 6º Fiebre, desmejoramiento rápido, susceptibilidad a las infecciones con

desenlace fatales desde la segunda semana.

7° Depilación entre la segunda y tercera semana.

8° Hemorragias entre la cuarta y quinta semana.

Con dosis de 1.000 a 3.000 rem la radiopatía presenta un cuadro característico de las lesiones producidas en el sistema gastrointestinal; hemorragias intestinales y deshidratación del organismo, la muerte sobreviene entre el 3° y 6° día.

Cuando la dosis llega a muchos miles de rem aparecen síntomas neuromusculares por lesiones en el sistema nervioso central y la muerte sobreviene en pocas horas.

IRRADIACION Y CRECIMIENTOS MALIGNOS

Se acepta actualmente que las radiaciones aumentan la probabilidad de inducción de tumores malignos y de leucemia; en individuos jóvenes este fenómeno puede ser previsible ya con dosis muy bajas.

Uno de los efectos retardados de la radiación es el cáncer de piel; este tipo de lesión se ha podido observar con cierta frecuencia entre los radiólogos.

El tratamiento por irradiación de tiroides, con fines terapéuticos durante la infancia, muestra cierta incidencia de carcinoma de tiroides, que es proporcional al rango de la dosis suministrada.

Datos tomados de los sobrevivientes a las explosiones nucleares de Hiroshima y Nagasaki, muestran un aumento de la incidencia de leucemia entre el período 1950 al 1958, con dosis de alrededor de 100 a 900 rads.

En observaciones efectuadas en radiólogos norteamericanos, cuyas edades estaban comprendidas entre los 74 a 85 años se pudo comprobar un considerable aumento en la incidencia de mortalidad por esta enfermedad (Leucemia)

En estudios realizados en Inglaterra, se pudo observar, que la mortalidad infantil por leucemia o cáncer antes de los 10 años, en un 15,5% correspondían a niños cuyas madres se les había hecho tomas radiográficas abdominales durante el embarazo.

En otro grupo similar de niños sanos y vivos se observaba que sólo el 8,3 % de las madres embarazadas habían sido sometidas a examen radiográfico en abdomen.

El riesgo más elevado se observa durante los tres primeros meses de embarazo en madres que son expuestas a los rayos X con fines de diagnósticos pelvimétricos.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Sino H.E.; Dunn L.; Dobahansky T. Principles of genetics - Mc. Graw Hill Book Company Inc. QUINTA Edición 1958
- 2.- Perlmann P. y T. Gustafson - Experientia 4 - 481 - 1948
- 3.- Perlmann P, Exp, Cells Res. 5 - 394 - 1953
- 4.- Flickinger R.A. y G.W. Nace Exp. Cell Res. 3 - 394 - 1952
- 5.- Clayton R.M. y Embryol exp. Morplol 1. - 25 - 1953
- 6.- Watson J.D. y F.H.C. Crick - Nature 171, 737, 1953
- 7.- Watson J.D. y F.H.C. Crick - Nature 171, 737, 1953
- 8.- Privat de Garilhe M, Les Nucléases - Hermann Paris 1964
- 9.- Nirenberg M.W. y J.H. Ma Hhaei, Proc. Natl. Acad. Sci. V.S, 47 1588 - 1961
- 10.- Brachet J, y J. Denis Nature 168 - 205 - 1963
- 11.- Brachet J.H. Denis y F. de Vitry - Developmental Biology 9 - 398 - 1964
- 12.- Bacq 2 M. y P. Alexander. Fundamentals of Radiobiology - Pergamon Press - Segunda Edición - 1961 - p. 126
- 13.- Weiss Y. Nature 153 - 748 - 1944
- 14.- Samuel R.H.Y.K. magee y Chem. Phys. 21 - 1080 - 1953

- 15.- Dalton, F.S.Y. Phys. Colloid Chem 52 - 490 - 1948
- 16.- Dale W.M.Y.V. Davies y C.W. Gilbert. Biochem Y. 15- 93- 1949
- 17.- Hems G. Nature 181 - 1721 - 1958
- 18.- Weiss Y. RADIATION Research Suppl. 1 - 184 - 1959
- 19.- Bacq 2 M. y P. Alexander. Fundamentals of Radiobiology - Pergamon Press - Segunda Edición - 1961 - p. 126
- 20.- Platzman R. y J. Frank - en Bacq 2 M. y P. Alexander - Fundaments of RADI(Radiobiology - Pergamon Press Segunda Ed. 1961 p. 183
- 21.- Spararrow A.H.F.M. Ronsenfeld Science 104 - 245 - 1946
- 22.- Butler G.C. Canad Y. RESEARCH B 27 - 972 - 1954.
- 23.- Taylor. B y P. Creentein y A.E. Hollaender Arch Biochem. Biophys 16 19 - 1948
- 24.- Weiss Y. Am. Rep. British EMPIRE Concer Campaig 37 - 394 - 1959
- 25.- Hems G. Nautre 186 - 710 (1960)
- 26.- Ord. M.C. y Stocken L.A. Biochim Biophys Aeta 37 - 352 - 1960
- 27.- Baq 2 M. y P. Alexander - Fundamentals of Radiobiology - Pergamon Press - Segunda Edición (1961) p. 207.
- 28.- Hertwig. G. Auch Fur Mikv Anat. 79 - 201 (1912)

- 29.- Packard C. Biol. Bull, 35 - 50 - 1918
- 30.- Henshaw P.S. Amerc. Y. Roentgnol 27 - 890 - 1932
- 31.- Henley C. y D.P. Costello Biol, Bull 112 - 184 - 1957
- 32.- Blum H.F.Y.C, Robinson Y G.M. Loss, Y, Gen Physil, 35, 323 - 1952
- 33.- Rugh R. Y. Cell Comp, Physil. 43 - Suppl 1-39- 1954
- 34.- Rollason G.S, Biol. Bull 97 - 169 - 1949
- 35.- Cather. Y.M. Radn, Res 11. 720 1959
- 36.- Mariano E. Arech, Bioq. QUIM, U Farm, 14- 51- 1968
- 37.- Neyfakh A.A. - Nature 201 - 880 - 1964
- 38.- Mariano E. y Scharam A. Arch, Internat. Physiol Bioch, 72, 691-1964
- 39.- Mariano E. y Schram A. Acta Physiol Lat, Amer. 16 - sup, 2- 79-1966
- 40.- Mariano E. y Schram Biochim. Biophys. Acta 103 - 610 - 1965
- 41.- Henshaw, P.S. Amer, Y. Roentgenol Radium THERAPY 43 - 907 - 1940
- 42.- Henshaw P.S.; I. Cohen - Amer Y. Reentgenol Radium Terapy 43 - 917 - 1940
- 43.- Yamaskita H.; Kmori y Mimiwa - Gann - 34 - 239 - 1940
- 44.- Rustad R.D, Exptl. Cell RES 21 - 596 - 1960

- 45.- Rao B. y R. Hinegardne - RADN. Res 26 - 534 - 1965
- 46.- Hultin T. Experiencia 17 - 410 - 1961
- 47.- Cerron R. y Zeuthen E. Expt. Cell. Res. 26 - 604- 1962
- 48.- RUSTAD R.C. y B.R. Burchill Radn. Res. 29 - 205 - 1966
- 49.- Kelly L.S. Progr. Biophys, Chem 8 - 143 - 1957
- 50.- Van Lanker, I. Federation Prog. 21 - 1113 - 1962
- 51.- Bacg 2m, y P. Alexander- Fundamentals of Radiobiology Pergamon Press
Segunda Edición - 1961
- 52.- Bax - K, y H. Cytology and Cytogenetics - Mac Millan y Co. L. T.D. Primera
Edición 1960 -p. 397
- 53.- I.A.E.A. Medical Supervision of Radiation WORKERS _ Viena 1968 p. 15 y 20
- 54.- I.A.E.A. Medical Supervision of Radiation Workers - Viena 1968 p. 19
- 55.- N.U. Informe del Comité Científico de las Naciones Unidas para el
estudio de los efectos de las radiaciones atómicas Nueva York 1958 p. 20
- 56.- I.A.E.A. - Medical Supervision of Radiation Workers - Viena 1968 - ps.28 y 37
- 57.- I.A.E.A. Medical Supervision of Radiation WORKERS _ Viena 1968 - p. 28
- 58.- N.U. Informe del Comité Científico de las Naciones Unidas para el estudio de
los efectos de las radiaciones atómicas - Nueva York (1958) p. 29,
- 59.- I.A.E.A. Medical Supervision of Radiation WORKERS _ Viena 1968 - p. 38

- 60.- I.A.E.A. - Medical Supervision of Radiation Workers - Viena
1968 - p. 38
- 61.- I.A.E.A. - Medical Supervision of Radiation WORKERS _ Viena
1968 - p. 38'
- 62.- I.A.E.A. - Suplemento Médico N°3 - Viena 1960 - p. 21
- 63.- I.A.E.A. - Suplemento Médico N°3 - Viena 1960 - p. 20
- 64.- N.U. Informe de los efectos de las radiaciones atómicas Nueva York
1958 - p. 29
- 65.- I.A.E.A. - Medical Supervision of Radiation WORKERS _ Viena 1968
p. 40,
- 66.- Pannetier Raymond - VADE-MECUM Du Technicien - Imprimerie Maisonneve - Paris -
Tomo Primero 1966 - p. 23.