

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA
AÑO 1.992

TESIS DOCTORAL

**VALORACION DEL LITIO COMO RADIOPROTECTOR
METABOLICO. CAMBIOS MORFOFUNCIONALES.
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS**

TOMO I

AUTOR

JOSE PARDO MASFERRER

DIRECTORES

PATROCINIO MORATINOS PALOMERO

JULIANA FARIÑA GONZALEZ

CERTIFICACIONES

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

PATROCINIO MORATINOS PALOMERO Y JULIANA FARIÑA GONZALEZ, PROFESOR ASOCIADO Y CATEDRATICO RESPECTIVAMENTE DEL DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID:

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo del Licenciado D. JOSE PARDO MASFERRER, presentado para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, bajo el título "VALORACION DEL LITIO COMO RADIOPROTECTOR METABOLICO.CAMBIOS MORFOFUNCIONALES.ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS", ha sido realizado bajo nuestra dirección y consideramos que reúne las condiciones necesarias para ser defendido ante el Tribunal correspondiente.

V.º B.º
EL TUTOR (2)

El Director de la Tesis

El Director de la Tesis

PATROCINIO MORATINOS/JULIANA FARIÑA

Fdo.: _____

Fdo.: _____

Fdo.: _____

(fecha y firma)

(fecha y firma)

N.I.F.:

N.I.F: 13016067-E

N.I.F: 8728651-J

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

SE CONSIDERA QUE LA TESIS "VALORACION DEL LITIO COMO RADIOPROTECTOR METABOLICO.CAMBIOS MORFOFUNCIONALES.ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS", REUNE LAS CONDICIONES NECESARIAS PARA SER DEFENDIDA ANTE EL TRIBUNAL CORRESPONDIENTE.

JOSE

Fecha reunión
Consejo Departamento

03.06.92

El Director del Departamento

03.06.92.

Fdo.: PRF J. SANZ ESPONERA

(fecha y firma)

DEDICATORIA

DEDICATORIA.

A mi esposa María Luisa, por su estímulo constante, amor y comprensión; a mi hijo Alberto por todo lo que me ha enseñado y a mis padres Martín y María por sus esfuerzos y confianza.

"Quién de todos los Sabios pudo haberlo previsto?.
Y si son Sabios, ¿ por qué esperarían saberlo
antes que sonara la hora?".

El Señor de los Anillos.

J.R.R. TOLKIEN.

"La vida es aquello que te va sucediendo mientras
tú te empeñas en hacer otros planes".

JOHN LENNON.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS.

Quiero expresar mi más profundo reconocimiento al Prof. Dr. D. Patrocinio Moratinos Palomero, Jefe de la Sección de Anatomía Patológica Experimental del Hospital Militar Central "Gomez Ulla", persona y profesional de gran valía, quien se brindó de forma desinteresada a encaminar este trabajo y cuya ayuda en todas sus fases ha sido muy importante.

Asimismo, agradezco muy sinceramente a la Catedrática Prof. D^a. Juliana Fariña Gonzalez el gran apoyo y colaboración que en todo momento ha prestado para la realización de esta tesis.

Este proyecto no hubiera sido posible sin el apoyo institucional del Hospital Militar Central "Gomez Ulla", y más concretamente de la Comisión de Investigación, que aprobó su realización.

He de agradecer asimismo la colaboración prestada, a nivel bibliográfico y material, por el Jefe del Servicio de Oncología Radioterápica del Hospital Militar Central "Gomez Ulla" D. Manuel Fuentes Ramos.

A mi buen amigo y extraordinario compañero, el Físico Adjunto de la Sección de Radiofísica del Hospital Militar "Gomez Ulla", D. Marcelino Prieto Villacorta, por su paciencia y gran ayuda en los aspectos de la dosimetría de la irradiación.

La realización de este trabajo me ha permitido trabajar conjuntamente con el personal del Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Militar Central "Gomez Ulla"; en especial con el Dr. en Veterinaria D. Timoteo Martinez Lopez, con el Licenciado en Biología D. Carlos Gutierrez Ortega y con el Auxiliar de Veterinaria D. José Luis Gomez Rivero. A todos ellos mi agradecimiento por el apoyo prestado y por su valía profesional.

Asimismo, mi gratitud a los Licenciados en Biología D. Jose Alfredo Menéndez del Campo y D. Juan Carlos Sanz de Frutos por su activa colaboración en las tareas experimentales.

A todos los componentes del Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Militar Central "Gomez Ulla" y en particular al Dr. D. Mario Gonzalez Alfonso y al Dr. D. Gustavo Chamorro Merino, así como al Dr. D. Antonio García Sanz por su colaboración en el estudio farmacocinético y en la preparación del fármaco.

Al Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Militar Central "Gomez Ulla", en especial a su Jefe de Servicio Dr. D. José Luis Perez Piqueras y al Químico Adjunto Dr. D. Fernando Rosales Matías por el apoyo brindado para la realización de este trabajo, su eficaz colaboración y su ayuda en el apartado de determinaciones hormonales.

Por otra parte, y no menos importante, la realización de esta Tesis no hubiera sido posible sin el apoyo y las facilidades brindadas por los miembros del Servicio de Radioterapia del Hospital "Son Dureta" de Palma de Mallorca. Mi agradecimiento a todos ellos y, de forma muy especial, al Dr. D. Gil Panadés Nigorra, Jefe de dicho Servicio, cuya aportación bibliográfica en el apartado de Radiobiología ha sido importante y, sobre todo, porque su estímulo constante y compañerismo me han permitido disponer del tiempo y la tranquilidad necesarios para la elaboración de este trabajo. Compañerismo y estímulo que también me han sido brindados por el Dr. D. Victor Manuel Muñoz Garzón, Médico Adjunto del citado Servicio. Dos excelentes profesionales cuya amistad me honra.

Agradezco a la Sra. D^a. Francisca Monar Rosselló Secretaria del citado Servicio su siempre amable y efectiva colaboración.

Al Servicio de Radioprotección y Física Médica del Hospital "Son Dureta", especialmente a su Jefe de Servicio D. Bartolomé Ballester Moll, por su revisión del capítulo radiofísico y al Físico Adjunto D. Juan Font Gelabert por su colaboración en la resolución de los problemas informáticos de última hora.

Mi gratitud al Dr. D. Alberto Peñafiel Ramirez, Jefe de la Sección de Medicina Nuclear del Hospital "Son Dureta". Su amistad, asesoramiento y experiencia han sido uno de los mejores hallazgos de esta búsqueda personal.

Agradezco a D. Jaume Daumal Domenech, Médico Adjunto de la Sección de Medicina Nuclear del Hospital "Son Dureta", su amistad, colaboración activa y asesoramiento en los capítulos matemático e informático.

Agradecimiento al Dr. D. Felix Mata Fuentes, Químico Adjunto de la Sección de Medicina Nuclear del Hospital "Son Dureta", por su paciencia, buen talante y su colaboración en la revisión del apartado bioquímico.

Quiero agradecer la colaboración prestada por el Dr. D. Juli Rifá Ferrer Médico Adjunto del Servicio de Oncología Médica del Hospital "Son Dureta" en el apartado de análisis estadístico.

Asimismo agradezco a la Dirección Médica y a la Gerencia del Hospital "Son Dureta" las facilidades prestadas para la realización de esta Tesis.

Cuando dos personas inician al mismo tiempo trabajos de investigación sobre temas interrelacionados se establece, normalmente, una buena relación. Pero, si ésta ya era previa, cimentada en años de trabajo conjunto y de buena amistad, uno siente reforzada la creencia de que los buenos amigos son escasos pero indispensables. Desde aquí mi afecto al Dr. D. Manuel Joaquín Martín de Miguel, con quien he compartido buena parte de los buenos y difíciles momentos que ha traído consigo la elaboración de nuestras Tesis.

Reconocimiento, respeto y afecto a mi maestro el Dr. D. Rafael Urbina Diez quien ha sido y es para mi un ejemplo de profesionalidad, coherencia personal y calidad humana.

Quiero constatar expresamente mi gratitud hacia todas las personas que de forma directa o indirecta han colaborado en la realización de este trabajo, de forma desinteresada, mediante la aportación de un bien inapreciable; su tiempo.

Debo expresar la satisfacción y el enriquecimiento personal que me ha proporcionado el trabajar con profesionales de muy distintas ramas, sin rivalidades y persiguiendo un mismo fin común; lo que constituye en si mismo la esencia de la profesión médica.

A mi familia; a mis padres Martín y María que con su esfuerzo hicieron posible mi formación universitaria y especialmente a mi mujer María Luisa, cuya paciencia, estímulo y apoyo han sido determinantes para superar los momentos de crisis inherentes a un trabajo de esta envergadura, y a mi hijo Alberto, por constituir el estímulo más importante de superación personal.

INDICE

I N D I C E.

TOMO I

<u>CERTIFICACIONES</u>	II
<u>DEDICATORIA</u>	IV
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	VII
<u>INDICE</u>	XIII
<u>1.-INTRODUCCION</u>	1
1.1.-ANTECEDENTES HISTORICOS	4
1.2.-RADIOPROTECTORES. CONCEPTO Y GENERALIDADES	7
1.2.1.Concepto	7
1.2.2.Factor de Reducción de Dosis	7
1.2.3.Mecanismos de actuación	8
1.2.4.Clasificación de los Radioprotectores	10
1.3.-ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA DE LA ICT Y DE LOS RADIOPROTECTORES	17
1.3.1.Efectos de la radiación a nivel celular	17
1.3.2.Efectos de la radiación a nivel orgánico. El Síndrome de Irradiación Corporal Total	27
1.3.2.1.Introducción	27
1.3.2.2.Parámetro de referencia para su estudio en las distintas especies	28
1.3.2.3.Cronología del SICT en animales y en el hombre	29
1.3.3.Compuestos Radioprotectores	36
1.3.3.1.Tioles (Eliminadores de radicales libres)	36
1.3.3.1.1.Introducción	36
1.3.3.1.2.Tioles Endógenos	45
1.3.3.1.2.1.Glutation	45
1.3.3.1.2.2.Cisteina	53

1.3.3.1.3.Tioles Exógenos	54
1.3.3.1.3.1.Cisteamina	54
1.3.3.1.3.2.WR-2721	55
1.3.3.1.3.3.WR-1065	69
1.3.3.2.Antioxidantes	71
1.3.3.2.1.Introducción	71
1.3.3.2.2.Enzimas antioxidantes	73
1.3.3.2.3.Metales antioxidantes (Miméticos de las enzimas antioxidantes)	80
1.3.3.2.4.Vitaminas antioxidantes	83
1.3.3.3.Modificadores de la respuesta biológica	88
1.3.3.3.1.Introducción	88
1.3.3.3.2.Polisacáridos	89
1.3.3.3.3.Citokinas	100
1.3.3.3.4.Prostaglandinas	105
1.3.3.4.Antieméticos	109
1.3.3.4.1.Introducción	109
1.3.3.4.2.Neurolépticos	111
1.3.3.4.3.Anticolinérgicos, Antihistamínicos H1 y H2, y Terapias de combinación	113
1.3.3.4.4.Otros antieméticos	114
1.4.-PERSPECTIVAS DE FUTURO	118
1.4.1.Introducción	118
1.4.2.Tioles	120
1.4.3.Antioxidantes	122
1.4.4.Modificadores de la respuesta biológica	123
1.4.5.Antieméticos	126
1.5.-EL LITIO COMO POSIBLE RADIOPROTECTOR	128
1.5.1.Farmacología	128
1.5.2.Usos clínicos	131
1.5.3.Efectos secundarios	134
1.5.4.El litio como posible radioprotector	136
1.6.-OBJETO DEL TRABAJO	141
1.7.-JUSTIFICACION DEL TRABAJO	144

<u>2.-MATERIAL Y METODOS</u>	149
2.1.-ANIMAL DE EXPERIMENTACION E IDENTIFICACION	151
2.2.-NUMERO DE ANIMALES Y SERIES	152
2.3.-METODOLOGIA RADIOTERAPICA	153
2.4.-METODOLOGIA PARA EL CALCULO DE LA DL50/30	161
2.5.-METODOLOGIA FARMACOLOGICA	167
2.6.-METODOLOGIA DEL SACRIFICIO DE LOS ANIMALES Y DE LA RECOGIDA DE SANGRE	170
2.7.-METODOLOGIA DE LAS DETERMINACIONES ANALITICAS Y BIOQUIMICAS	171
2.8.-METODOLOGIA DE LA DISECCION Y DEL PESAJE DE LOS ORGANOS	178
2.9.-METODOLOGIA HISTOLOGICA	187
2.10.-TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS	194
2.11.-METODOLOGIA PARA EVALUAR EL EFECTO RADIOPROTECTOR DEL LITIO	196
2.12.-TRATAMIENTO INFORMATICO UTILIZADO	198
<u>3.-RESULTADOS</u>	200
3.1.-SUPERVIVENCIA DE LAS SERIES USADAS PARA EL CALCULO DE LA DL 50/30 ...	202
3.1.1.SERIE SOMETIDA A ICT CON 800 cGy	202
3.1.2.SERIE SOMETIDA A ICT CON 900 cGy	202
3.1.3.SERIE SOMETIDA A ICT CON 908 cGy	203
3.1.4.SERIE SOMETIDA A ICT CON 928 cGy	203
3.1.5.SERIE SOMETIDA A ICT CON 940 cGy	204
3.1.6.SERIE SOMETIDA A ICT CON 1000 cGy	204
3.1.7.SERIE SOMETIDA A ICT CON 1200 cGy	205
3.2.-CALCULO DE LA DL 50/30	206

3.3.-RESULTADOS DE LA SERIE CONTROL	207
3.3.1.PARAMETROS SANGUINEOS	207
3.3.2.PESAJE DE LOS ORGANOS	207
3.3.3.HISTOLOGIA	207
3.4.-RESULTADOS DE LA SERIE SOMETIDA A ICT CON LA DL 50/30 CALCULADA	207
3.4.1.OBSERVACIONES CLINICAS	215
3.4.2.MORTALIDAD	215
3.4.3.PARAMETROS SANGUINEOS	216
3.4.4.PESAJE DE LOS ORGANOS	217
3.4.5.ALTERACIONES HISTOLOGICAS	218
3.5.-RESULTADOS DE LA SERIE CON ADMINISTRACION INTRAPERITONEAL DE LITIO PREVIA A LA ICT	231
3.5.1.OBSERVACIONES CLINICAS	231
3.5.2.MORTALIDAD	231
3.5.3.PARAMETROS SANGUINEOS	232
3.5.4.PESAJE DE LOS ORGANOS	233
3.5.5.ALTERACIONES HISTOLOGICAS	233
3.6.-RESULTADOS DEL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE AMBAS SERIES	250
3.6.1.OBSERVACIONES CLINICAS	250
3.6.2.MORTALIDAD	250
3.6.3.PARAMETROS SANGUINEOS	251
3.6.4.PESAJE DE LOS ORGANOS	252
3.6.5.ALTERACIONES HISTOLOGICAS	252
<u>4.-DISCUSION</u>	259
4.1.-CALCULO DE LA DOSIS LETAL 50/30	261
4.2.-ALTERACIONES SUFRIDAS EN AMBAS SERIES TRAS LA ICT	262
4.2.1.GENERALIDADES	262
4.2.2.CLINICA	263
4.2.3.MORTALIDAD	266
4.2.4.SISTEMA NERVIOSO Y APARATO DE LA VISION	266
4.2.5.APARATO RESPIRATORIO	269
4.2.6.APARATO CIRCULATORIO	274
4.2.7.APARATO DIGESTIVO Y ORGANOS ANEJOS	276

4.2.8.SISTEMA GENITOURINARIO	287
4.2.9.SISTEMA LINFOHEMATOPOYETICO Y HEMATOLOGIA	293
4.2.10.GLANDULAS ENDOCRINAS Y METABOLISMO	302
<u>5.-CONCLUSIONES</u>	309
<u>6.-RESUMEN</u>	314
<u>7.-BIBLIOGRAFIA</u>	317
<u>TOMO II</u>	
<u>INDICE</u>	I
<u>8.-CONCEPTOS, DEFINICIONES Y ABREVIATURAS</u>	379
8.1.-CONCEPTOS Y DEFINICIONES	381
8.2.-ABREVIATURAS MAS USADAS	387
<u>9.-FICHAS INDIVIDUALES DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION</u>	392
9.1.-SERIES DE RATAS UTILIZADAS PARA EL CALCULO DE LA DL 50/30	394
9.1.1.SERIE DE ICT CON 800 cGy	404
9.1.2.SERIE DE ICT CON 900 cGy	401
9.1.3.SERIE DE ICT CON 908 cGy	408
9.1.4.SERIE DE ICT CON 928 cGy	415
9.1.5.SERIE DE ICT CON 940 cGy	422
9.1.6.SERIE DE ICT CON 1.000 cGy	430
9.1.7.SERIE DE ICT CON 1.200 cGY	437
9.2.-SERIE CONTROL	445

9.3.-SERIE DE RATAS SOMETIDAS A ICT CON 912 cGy505
9.4.-SERIE DE RATAS TRATADAS CON ADMINISTRACION INTRAPERITONEAL DE LITIO, PREVIA A LA ICT CON UNA DOSIS DE 912 cGy655
<u>10.-GRAFICOS</u>814
10.1.-SERIES UTILIZADAS PARA EL CALCULO DE LA DL 50/30816
10.2.-SERIES PROBLEMA837
<u>11.-TABLAS</u>846
11.1.-TABLAS DE ANALITICAS PRACTICADAS848
11.2.-TABLAS DE PESOS DE LOS ORGANOS867
<u>12.-APENDICE I</u>880
12.1.-HOJAS DE CALCULO DOSIMETRICO DE LAS SERIES SOMETIDAS A ICT882
12.2.-ESTUDIO COMPARATIVO DE LA SUPERVIVENCIA ENTRE LAS DOS SERIES PROBLEMA891
13.- FE DE ERRATAS900

1.- INTRODUCCION

<u>1.-INTRODUCCION</u>	1
1.1.-ANTECEDENTES HISTORICOS	4
1.2.-RADIOPROTECTORES. CONCEPTO Y GENERALIDADES	7
1.2.1.Concepto	7
1.2.2.Factor de Reducción de Dosis	7
1.2.3.Mecanismos de actuación	8
1.2.4.Clasificación de los Radioprotectores	10
1.3.-ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA DE LA ICT Y DE LOS RADIOPROTECTORES	17
1.3.1.Efectos de la radiación a nivel celular	17
1.3.2.Efectos de la radiación a nivel orgánico. El Síndrome de Irradiación Corporal Total	27
1.3.2.1.Introducción	27
1.3.2.2.Parámetro de referencia para su estudio en las distintas especies	28
1.3.2.3.Cronología del SICT en animales y en el hombre	29
1.3.3.Compuestos Radioprotectores	36
1.3.3.1.Tioles (Eliminadores de radicales libres)	36
1.3.3.1.1.Introducción	36
1.3.3.1.2.Tioles Endógenos	45
1.3.3.1.2.1.Glutation	45
1.3.3.1.2.2.Cisteina	53
1.3.3.1.3.Tioles Exógenos	54
1.3.3.1.3.1.Cisteamina	54
1.3.3.1.3.2.WR-2721	55
1.3.3.1.3.3.WR-1065	69
1.3.3.2.Antioxidantes	71
1.3.3.2.1.Introducción	71
1.3.3.2.2.Enzimas antioxidantes	73
1.3.3.2.3.Metales antioxidantes (Miméticos de las enzimas antioxidantes)	80
1.3.3.2.4.Vitaminas antioxidantes	83

1.3.3.3.Modificadores de la respuesta biológica	88
1.3.3.3.1.Introducción	88
1.3.3.3.2.Polisacáridos	89
1.3.3.3.3.Citokinas	100
1.3.3.3.4.Prostaglandinas	105
1.3.3.4.Antieméticos	109
1.3.3.4.1.Introducción	109
1.3.3.4.2.Neurolépticos	111
1.3.3.4.3.Anticolinérgicos, Antihistamínicos H1 y H2, y Terapias de combinación ..	113
1.3.3.4.4.Otros antieméticos	114
1.4.-PERSPECTIVAS DE FUTURO	118
1.4.1.Introducción	118
1.4.2.Tioles	120
1.4.3.Antioxidantes	122
1.4.4.Modificadores de la respuesta biológica	123
1.4.5.Antieméticos	126
1.5.-EL LITIO COMO POSIBLE RADIOPROTECTOR	128
1.5.1.Farmacología	128
1.5.2.Usos clínicos	131
1.5.3.Efectos secundarios	134
1.5.4.El litio como posible radioprotector	136
1.6.-OBJETO DEL TRABAJO	141
1.7.-JUSTIFICACION DEL TRABAJO	144

1.-INTRODUCCION.

1.1.-ANTECEDENTES HISTORICOS.

En todas las exposiciones incontroladas a las radiaciones ionizantes desde Hiroshima y Nagasaki se han observado unas características comunes que han afectado significativamente el desarrollo y el empleo de radioprotectores. Estas características son las siguientes (1):

1.-En contraste con la exposición radioterápica, la calidad de la radiación en las situaciones incontroladas frecuentemente se desconoce.

2.-La distribución de la dosis recibida probablemente no sea homogénea, lo que constituye un factor importante para el tratamiento de estas personas.

3.-Las lesiones por radiación debidas a armas nucleares, accidentes o a la permanencia en el espacio se potencian frecuentemente por el stress asociado.

4.-En este tipo de exposiciones incontroladas es difícil predecir la cronología de las lesiones.

Hace 45 años que Barron, en 1946, demostró que el glutati6n (GSH) proporcionaba protecci6n, a una preparaci6n de enzimas en soluci6n, contra la inactivaci6n provocada por las radiaciones ionizantes (2).

Patt, Tyree, Straube y Smith, en 1.949 (3), comunicaron que la Cisteína protegía al ratón contra los efectos de la Irradiación Corporal Total (ICT) con un Factor de Reducción de Dosis igual a 2.

Dos años más tarde, Bacq, Herve, Lecompte y cols., en 1951 (4), comunicaron que la Cisteamina también tenía efecto radioprotector.

En los años inmediatamente posteriores a la II Guerra Mundial, en la que por primera vez se habían utilizado proyectiles atómicos, la posibilidad de un compuesto que brindara protección frente a la ICT y sus efectos fué de gran interés para el estamento militar (4). Desde ese momento se iniciaron multitud de investigaciones en todo el mundo para encontrar nuevos compuestos con acción radioprotectora, fomentadas en gran parte por la situación política existente, en plena época de "guerra fría" y de tensión entre los dos grandes bloques.

Al inicio de la década de los cincuenta, la Comisión de Energía Atómica de los Estados Unidos inició un programa de desarrollo de radioprotectores que llevó a la síntesis de la aminoetilisotiurea (AET) y a una mayor comprensión de las características estructurales de los compuestos sulfurados (5).

Los primeros programas de investigación en síntesis y evaluación de radioprotectores dieron como resultado unos compuestos análogos de la cisteína que eran demasiado tóxicos.

Otro gran programa de investigación fué patrocinado por el U.S. Army Research and Development Command, con el nombre de Antirradiation Drug Development

Program, y se desarrolló entre los años 1.959 y 1.973 en el Walter Reed Army Institute of Research (6).

Durante estos años se sintetizaron y probaron unos 4.400 compuestos que tenían una estructura similar a la cisteína y a la cisteamina, con la intención de encontrar alguno que fuera menos tóxico que éstos. El primer gran paso en esa investigación fue el descubrimiento, de que si el grupo sulfidrilo se combinaba con un fosfato, era preciso administrar el doble de la dosis para conseguir un nivel dado de toxicidad. Uno de los compuestos desarrollados fue el ácido S-2(3-aminopropilamino)etilfosforotioico identificado por las siglas WR-2721. Su nombre comercial es Ethiofos y, desde su descubrimiento hasta la actualidad, es el prototipo de fármaco radioprotector (6) (7) (8).

Los aminotioles fosforilados representaron una gran mejoría respecto a los primitivos compuestos en cuanto a la potencia de su acción, tolerancia y duración de su acción, pero así y todo seguían presentando efectos colaterales indeseables

Se produjo una disminución del interés en este tema hasta el final de los años 70 cuando se replanteó la utilidad de los compuestos radioprotectores como coadyuvantes en el tratamiento del cancer. Se efectuaron los primeros ensayos clínicos con WR-2721 en pacientes con cancer sometidos a tratamientos radioterápicos (9). Asimismo se potenció la investigación de todos los grupos de compuestos susceptibles de brindar radioprotección con el ánimo de encontrar nuevos radioprotectores que tuvieran al menos igual o superior efectividad que el WR-2721 y que presentaran menos toxicidad y efectos secundarios.

1.2.- RADIOPROTECTORES.CONCEPTO Y GENERALIDADES.

1.2.1.- CONCEPTO DE RADIOPROTECTOR.

La definición generalmente aceptada (10) (11) de radioprotector es la siguiente: Se considera un verdadero radioprotector a aquel que actúa elevando el umbral lesivo para la radiación ionizante recibida por la célula; es decir, en presencia de un compuesto radioprotector se necesita una mayor dosis de radiación para producir una determinada lesión que la que sería necesaria en ausencia de este compuesto.

1.2.2.-FACTOR DE REDUCCION DE DOSIS (FRD).

Para poder valorar cuantitativamente el efecto radioprotector de un compuesto o de un procedimiento terapéutico se estableció el concepto de Factor de Reducción de Dosis (FRD), que a su vez se define como el cociente entre la dosis de radiación que, tras la administración del compuesto que se está evaluando, se precisa para producir un cierto efecto y la dosis de radiación necesaria para producir ese mismo efecto sin la administración del compuesto (1). Podemos expresar matemáticamente este concepto mediante la siguiente expresión:

$$\text{FRD} = \frac{D_1}{D_0}$$

Siendo : D_0 : Dosis de radiación necesaria para producir un cierto efecto.

D_1 : Dosis de radiación necesaria para producir el mismo efecto en presencia del radioprotector.

De lo expuesto más arriba se deduce fácilmente que solo podrán considerarse con efecto radioprotector aquellas sustancias o compuestos cuyo FRD sea mayor que la unidad.

1.2.3.-MECANISMOS DE ACTUACION.

La definición de radioprotector se refiere estrictamente a aquellas sustancias o compuestos que son capaces de modificar la respuesta biológica celular, y por tanto tisular y orgánica a la radiación, lo que lleva implícita una influencia en la supervivencia y que, además, establece un requisito indispensable para la consideración de una sustancia como radioprotector que es la necesidad de que esta sustancia esté presente en el organismo antes de que se produzca la irradiación.

De un tiempo a esta parte, sin embargo, existe la tendencia a considerar también como sustancias radioprotectoras a aquellas que, sin modificar la respuesta celular a la radiación (12) y que, por lo tanto, no afectarán a la supervivencia celular y orgánica, favorezcan la reproducción de las células supervivientes o tengan efectos paliativos sobre los síntomas que pueden llevar al fallecimiento del individuo.

Estas sustancias, a las que se califica en la actualidad como radioprotectores sin que en puridad puedan considerarse como tales, reducirían el tiempo de recuperación en los individuos afectados, siempre que esto fuera posible, y paliarían el disconfort de aquellos que no fueran recuperables. En resumen, pues:

RADIOPROTECTORES METABOLICOS.

I.- Radioprotectores en el sentido estricto del término.

Aquellos agentes o procedimientos que puedan facilitar la reparación del daño inducido por la radiación o facilitar su recuperación.

II.- Radioprotectores "no estrictos".

Tratamientos profilácticos o inmediatos que puedan reducir el deterioro del estado general provocado por la radiación en el individuo afectado.

Según las consideraciones anteriores y moviéndonos en sentido teórico, la acción de un radioprotector en el concepto amplio del término se efectuaría por uno/s de los siguientes mecanismos de actuación:

1) Proteger de los efectos directos de la radiación y de la formación de radicales libres (peróxidos y superóxidos). Esto se realizaría mediante la reducción de los tóxicos intermedios.

2) Reparación de los daños moleculares. Esto se realizaría mediante la restauración de la integridad molecular.

3) Regeneración de las células seriamente dañadas por medio de la estimulación de las posibles células madres supervivientes.

4) Eliminación o disminución de la sintomatología provocada por la irradiación, ya sea de un órgano o del conjunto del organismo.

1.2.4.-CLASIFICACION DE LOS RADIOPROTECTORES.

Se han efectuado varias revisiones, intentando establecer clasificaciones de estos compuestos, como las efectuadas por Davidson, Grenan y Sweeney en 1980 (7), por Giambarresi y Jacobs en 1987 (13) y por Pardo, Martin, Moratinos y Menendez, en 1990 (14).

Hay que tener en cuenta que la multitud de compuestos que se han investigado y que se investigan en la actualidad imposibilita su enumeración exhaustiva y que algunos de ellos actúan o pueden actuar por más de un mecanismo (por ejemplo algunas vitaminas y algunos modificadores de la respuesta biológica) por lo que las interrelaciones entre los distintos apartados presentan una complejidad tal que justificarían por si mismas un estudio y revisión independientes.

Debido a que se trata de un tema en el que las nuevas investigaciones efectuadas obligan a replantearlo constantemente y no es posible, por tanto, pretender establecer postulados inmutables, en esta tesis proponemos la siguiente clasificación propia que se ha elaborado intentando simplificarla lo máximo posible y que se expone en la FIGURA 1.

FIGURA 1. Clasificación de los Radioprotectores.

A) RADIOPROTECTORES EN SENTIDO ESTRICTO.

1.- ELIMINADORES DE RADICALES LIBRES. TIOLES.

1.1.-TIOLES ENDOGENOS (Tioles aniónicos).

1.1.1.-Glutati3n.

1.1.2.-Cisteina.

1.1.3.-Mercaptosuccinato.

1.2.-TIOLES NEUTROS.

1.2.1.-Mercaptoetanol.

1.2.2.-Ditiotrolol.

1.3.-TIOLES EXOGENOS (Tioles cati3nicos).

1.3.1.-Cisteamina.

1.3.2.-WR-2721.

1.3.3.-WR-1065.

1.3.4.-WR-3689.

2.- ANTIOXIDANTES.

2.1.-ENZIMAS ANTIOXIDANTES.

2.1.1.-Principales.

2.1.1.1.-Glutati3n Peroxidasa (GSHPx).

2.1.1.2.-Catalasa.

2.1.1.3.-Super3xido Dismutasa (SOD).

FIGURA 1. Clasificación de los Radioprotectores.

2.1.2.-Secundarias.

**2.1.2.1.-Glutación Transferasa
(GSHTx).**

2.1.2.2.-Glutación Reductasa (GR).

**2.1.2.3.-Glucosa 6-fosfato
dehidrogenasa.**

2.2.-METALES ANTIOXIDANTES.

(Miméticos de las Enzimas Antioxidantes).

2.2.1.-Compuestos de Cobre.

2.2.2.-Compuestos de Hierro.

2.2.3.-Compuestos de Selenio.

2.2.4.-Dietilditiocarbamato (DDC).

2.3.-VITAMINAS ANTIOXIDANTES.

2.3.1.-Vit. C.

**2.3.2.-Vit. A (y su componente el
B-caroteno).**

**2.3.3.-Vit. E (y su componente el
A-tocoferol).**

FIGURA 1. Clasificación de los Radioprotectores.

3.- MODIFICADORES DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA.

3.1.-POLISACARIDOS.

3.1.1-Endotoxinas.

3.1.2.-Otros Polisacáridos.

3.1.2.1.-Glucan.

3.1.2.1.1.-Glucan P.

3.1.2.1.2.-Glucan F.

3.1.2.1.-GLP/BO4.

3.1.2.2.-GLP/BO5.

3.1.2.3.-MN2.

3.1.2.4.-MNR.

3.1.2.5.-Picibanil (OK432).

3.2.-CITOKINAS.

3.2.1.-Linfokinas.

3.2.2.-Monokinas.

3.3.-PROSTAGLANDINAS.

3.3.1.-PGE1.

3.3.2.-PGE2.

FIGURA 1. Clasificación de los Radioprotectores.

B) RADIOPROTECTORES NO ESTRICTOS.

1.- ANTIEMETICOS.

1.1.-NEUROLEPTICOS.

1.1.1.-Fenotiacinas.

1.1.2.-Butiroferonas.

1.2.-ANTICOLINERGICOS.

1.3.-ANTIISTAMINICOS H1 Y H2.

1.4.-TERAPIAS DE COMBINACION.

1.5.-OTROS ANTIEMETICOS.

1.5.1.-Metoclopramida.

1.5.2.-Domperidone.

1.5.3.-Cannabinoides sintéticos.

1.5.4.-Antiinflamatorios.

1.5.4.1.-Acido Acetil Salicílico.

1.5.4.2.-Indometacina.

FIGURA 1. Clasificación de los Radioprotectores.

1.5.5.-Nuevos Agentes.

1.5.5.1.-Dazopride (AHR 5531).

1.5.5.2.-BRL 42924.

1.5.5.3.-MDL 72222.

1.5.5.4.-ICS 205-930.

2.- ANTIDIARREICOS.

3.- VITAMINAS.

4.- REPOSICION DE LIQUIDOS Y ELECTROLITOS.

5.- REPOSICION DE ELEMENTOS FORMES DE LA SANGRE.

6.- ESTIMULANTES DE LAS POSIBLES CELULAS MADRES
SUPERVIVIENTES.

7.- ANTIINFECCIOSOS.

7.1.-AGENTES ANTIINFECCIOSOS.

7.2.-MEDIDAS DE ASEPSIA.

7.2.1.-Aislamiento en ambiente esteril.

1.3.- ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA DE LA ICT

Y DE LOS RADIOPROTECTORES.

1.3.1.-EFECTOS DE LA RADIACION A NIVEL CELULAR.

Cuando las radiaciones ionizantes interaccionan con un medio biológico lo hacen al azar. Existirá pues una posibilidad de que se produzca o no una interacción con una célula determinada. Esta interacción puede producirse, dependiendo también del azar, bien con las macromoléculas importantes desde el punto de vista biológico como el DNA y las enzimas, bien con el abundante agua intracelular (15). Según donde se produzca se denomina efecto directo e indirecto respectivamente.

Los fotones interaccionan con los átomos para producir electrones rápidos, o acelerados, que son expulsados de esos átomos y efectúan un recorrido a través de la materia liberando su energía en forma de pares de iones.

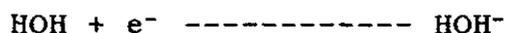
En el caso del efecto directo se produce una ionización de la macromolécula que se convierte en una estructura anormal.

Con el efecto indirecto se absorbe la radiación por el agua intracelular (HOH) lo que da como resultado la producción de un ión radical de agua y un electrón hidratado (16).

radiación



El electrón libre es capturado por otra molécula de agua formando otro ión radical de agua pero de signo contrario al primero.



Estos dos iones producidos son inestables y se disocian rapidamente, siempre que estén presentes moléculas de agua normales, formándose otro ión y un radical libre (los radicales libres contienen un solo electrón orbital externo no emparejado lo que los hace fuertemente reactivos debido a la tendencia del electrón no emparejado a emparejarse con otro electrón) según las siguientes reacciones (17):



Como puede verse, la interacción de la radiación con las moléculas de agua intracelular (acción indirecta) ha producido la formación de dos iones y dos radicales libres. Proceso denominado radiolisis del agua.

Los iones pueden recombinarse formando otra vez una molécula de agua sin producir daño celular



o pueden reaccionar químicamente con las macromoléculas de la célula dañándolas. La opción más probable es la primera siempre que los dos iones estén próximos entre sí.

Por su parte, los dos iones radicales de agua pueden reaccionar con otra molécula de agua (16), por ejemplo:



reacción que producirá la formación de un nuevo radical libre (radical hidroxilo).

Estos radicales libres que se producen son extremadamente reactivos y pueden recombinarse entre sí sin producir daños formando una molécula de agua.



o bien produciendo moléculas tóxicas para la célula como el peróxido de hidrógeno.



Por último pueden reaccionar con moléculas normales y con macromoléculas de la célula formando estructuras nuevas o lesionadas, por ejemplo un radical libre reacciona con el oxígeno formando otro radical libre (en este caso el radical peróxido).



O bien, un radical libre reacciona con una molécula biológica (RH) liberando hidrógeno y formando un radical libre biológico. La reacción principal es la sustracción de hidrógeno por los radicales hidroxilo (OH·) aunque se produce también con radicales H· (18).



Resumiendo; la acción directa produce daños por la ionización directa de una macromolécula biológica; la acción indirecta produce daños a través de reacciones químicas iniciadas por la ionización del agua. En ambos casos la interacción primaria (ionización) es la misma; la definición de acción directa o indirecta depende del lugar donde se produzca la ionización y la absorción de energía en la célula.

Hay que tener presente que, debido que en la célula hay más cantidad de agua que de ningún otro componente estructural, la probabilidad de que la radiación produzca daños por acción indirecta es mucho mayor que la de que se produzcan por acción directa. Además la acción indirecta puede deberse también a la formación de radicales libres por ionización de otros constituyentes celulares, especialmente las grasas.

La mayor parte de los investigadores en radiobiología consideran que las lesiones provocadas por las radiaciones ionizantes en el Acido Desoxiribonucleico (DNA) son las principales responsables de los efectos celulares de la irradiación (19). Se cree que la lesión letal, producida por cualquiera de los dos efectos, es una rotura irreparable de la doble cadena del DNA (20) que conduce a una reparación defectuosa o a una falta de unión del cromosoma. En cualquiera de los dos casos esto supondría una pérdida de información genética vital y de la integridad reproductora de la célula (20).

Se cree que aproximadamente un 75 % de las lesiones producidas en el DNA en células de mamíferos se produce por el efecto indirecto de las radiaciones (16) y que, de entre todos los radicales libres producidos, el más perjudicial es el radical hidroxilo (19) (21).

En 1964, se publicó en nuestro país la edición española de la obra de Bacq y Alexander "Fundamentos de Radiobiología". Los autores desarrollaron en ella un esquema (22) en el que se describían los acontecimientos radiobiológicos que se producen desde la exposición a las radiaciones, se especificaban los periodos de tiempo en los que podían ocurrir y se

aventuraban las posibilidades de intervención externas. Dicho esquema se ha convertido en un clásico dentro de la radiobiología y se expone, modificado del original para adaptarlo al propósito de este capítulo en la FIGURA 2.

El oxígeno y otras sustancias oxidantes tienen la propiedad de fijar las alteraciones radioquímicas producidas en el DNA celular pudiéndolas convertir en irreversibles (21) y asimismo prolongan la vida activa de los radicales libres (23). Esta propiedad se conoce con el nombre de Efecto Oxígeno (24).

Este efecto del oxígeno se ejerce de forma competitiva con el sistema celular de defensa antioxidativa, formado por diversas enzimas y otras sustancias reductoras (catalasa, peroxidasa, glutatión, vitaminas C y E) (25). Este sistema tiene un efecto radioprotector (26) en virtud de su propiedad de reaccionar con el oxígeno activo o con sus productos de reacción (radical OH, radical superóxido, radicales peróxidos, etc.) inactivándolos o aminorando su acción a nivel molecular y celular (27).

Diversos autores han estudiado y esquematizado este modelo competitivo y estas reacciones de oxidación y reducción. Phillips en 1984 (28), resumió, esquematizándolos, todos estos procesos reactivos de importancia en la radiobiología celular, tal como se exponen en la FIGURA 3.

De lo dicho más arriba se infiere que cualquier sustancia que pudiera interferir en estos procesos oxidativos, bien por su acción reductora "per se" o bien por su capacidad de combinación con los radicales libres inactivándolos o disminuyendo sus efectos

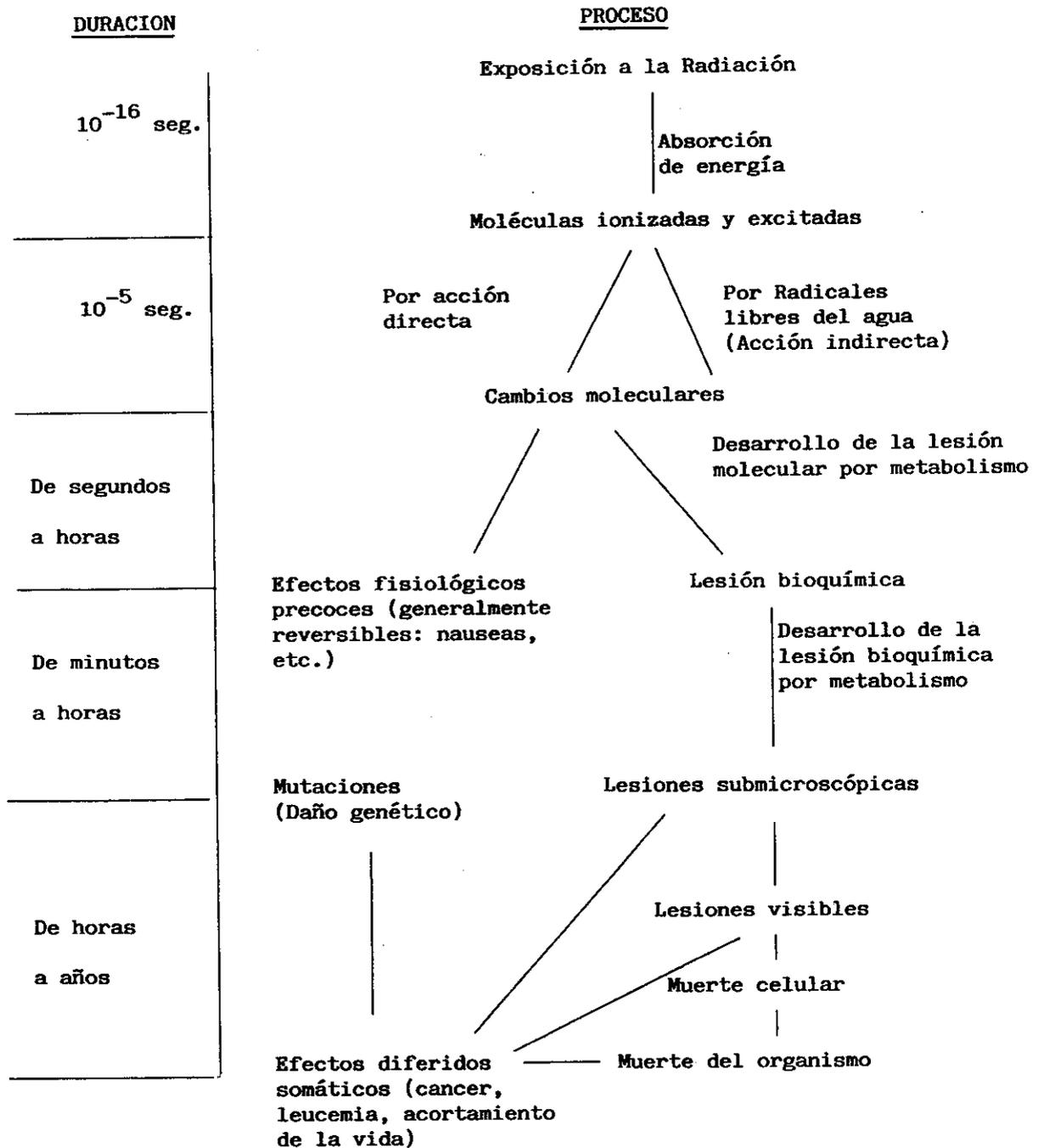
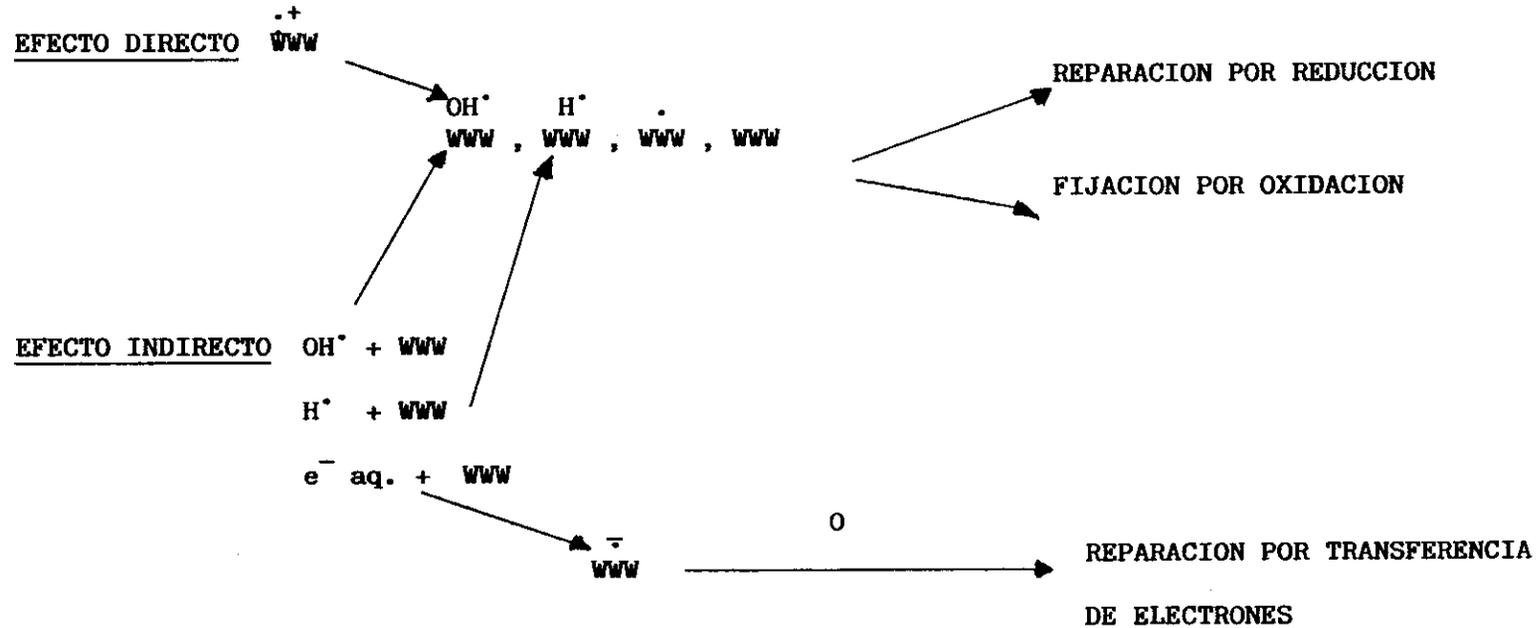


FIGURA 2 : Cronología de los procesos producidos desde la exposición de un organismo a las Radiaciones Ionizantes.

Modificado de BACQ,Z.M., ALEXANDER,P.: Fundamentos de Radiobiología. Ed. Acribia, Zaragoza. 1964. p.XIX.

FIGURA 3 PROCESOS REDOX EN LA RADIOBIOLOGIA CELULAR



Siendo WWW : Molécula Diana Celular

R : Reductor

O : Oxidante

Modificado de PHILLIPS, T.L.: Radiosensibilizadores y protectores. En: De VITA, V.T., HELLMAN, S., ROSEMBERG, S.A. (eds.) Cancer. Principios y práctica de Oncología. Salvat, Barcelona, 1984. pp.:1671.

secundarios, ejercería una acción competitiva con todos ellos y tendría, por lo tanto, efecto radioprotector (29) (30). Coleman, Bump y Kramer expusieron en 1988 (31) este modelo de competición entre el oxígeno, los radioprotectores (en este caso los tioles que serán estudiados con detalle más adelante) y los radiosensibilizantes. Estos últimos serían como se deduce fácilmente, aquellos compuestos que potenciarían los efectos de las radiaciones y sus alteraciones a nivel celular y orgánico. Un resumen de este modelo de competición se expone en la FIGURA 4.

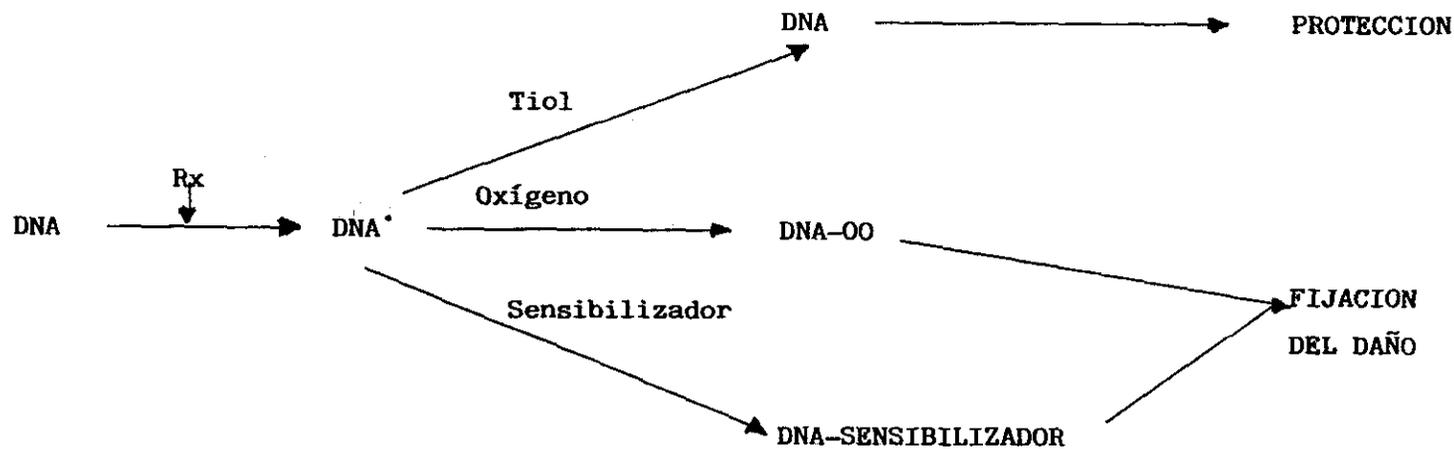


FIGURA 4 : MODELO DE COMPETICION: El radical DNA (DNA^\bullet) formado por la acción de la radiación ionizante puede llegar a la restitución química en presencia de un radioprotector (Tiol), o puede, en presencia del oxígeno o de un radiosensibilizador, persistir provocándose así una fijación del daño en el DNA.

Tonado de COLEMAN, C.N., BRUMP, E.A., KRAMER, R.A.: Chemical modifiers of cancer therapy. J. Clin. Oncol..1988.6:709-733.

1.3.2.-EFECTOS DE LA RADIACION A NIVEL ORGANICO.

EL SINDROME DE IRRADIACION CORPORAL TOTAL (SICT).

1.3.2.1.-INTRODUCCION.

La exposición global y aguda de un organismo a la radiación produce un conjunto de signos, síntomas y datos clínicos sumamente específicos tanto en cuanto a su naturaleza como a su cronología. A todo este conjunto de alteraciones se le conoce como Síndrome de Irradiación Corporal Total (SICT) y en la literatura internacional como Total Body Irradiation Syndrom (TBIS).

Para que podamos considerar que un organismo presenta un SICT la exposición a la radiación ha tenido que cumplir las siguientes condiciones (32):

1.- La exposición a la radiación tiene que ocurrir de forma aguda (en cuestión de minutos). Esta condición excluye a otros tipos de exposiciones como por ejemplo la de los trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes que es, normalmente, de tipo crónico.

2.- Es preciso que la exposición a la radiación sea de todo o casi todo el organismo. Esta condición excluye a las exposiciones parciales que solo se manifestarán por afectaciones de los órganos expuestos.

3.- Si tenemos en cuenta el hecho de que las sustancias radiactivas que penetran en el interior del

organismo no provocan la aparición de un TBIS completo, se comprende con facilidad el que la tercera condición sea que la exposición tenga que ser a fuentes externas que emitan una radiación penetrante.

1.3.2.2.-PARAMETRO DE REFERENCIA PARA EL ESTUDIO

DEL SICT EN DISTINTAS ESPECIES.

El efecto más evidente de la exposición global aguda en cualquier organismo, sea cual sea su especie, es un acortamiento de su existencia. Este acortamiento ha resultado ser directamente proporcional a la cantidad de dosis recibida por el organismo expuesto (33).

Para poder valorar adecuadamente este efecto tenemos que referirnos al Tiempo de Supervivencia. Podemos definir el tiempo de supervivencia de un organismo frente a una determinada dosis de exposición corporal total como la media de los tiempos de supervivencia individual, frente a la misma dosis, de un número significativo de individuos expuestos de su misma especie (34).

A fin de poder relacionar la supervivencia con la dosis recibida y el tiempo, empleamos el concepto de Dosis Letal x/y (DL x/y), siendo x el tanto por ciento de individuos fallecidos e y el tiempo que tardan en fallecer. Así; cuando hablamos por ejemplo de la DL 50/30,

nos referimos a la dosis necesaria para causar la muerte del 50% de una población en un periodo de 30 días (32).

Para referirnos a la especie humana usamos el concepto de DL 50/60 debido a que el Síndrome de la Médula Osea, que se detallará más adelante, se produce más tarde que en otras especies y, por lo tanto, pueden producirse fallecimientos hasta los 60 días después de la irradiación (35). En los animales es válido el uso de la DL 50/30 ya que el mayor porcentaje de muertes se produce en los primeros 15 días tras la irradiación.

Los valores de DL 50/30 para distintas especies se enumeran en la FIGURA 5.

1.3.2.3.- CRONOLOGIA DEL SICT EN ANIMALES

Y EN EL HOMBRE.

1.3.2.3.1.- EN ANIMALES.

Salvaguardando las particularidades propias de cada especie animal, podemos decir que, en general, el SICT se presenta en 3 fases cuya duración depende en forma inversamente proporcional de la dosis administrada; o sea, que cuanto mayor es la dosis administrada menor es la duración de cada etapa y más rápido es el desenlace (36).

1.- Etapa Prodrómica. Se caracteriza porque el animal presenta nauseas, vómitos y diarreas.

FIGURA 5. Valores de DL 50/30 para distintas especies.

<u>ESPECIE</u>	<u>DL 50/30 en cGY</u>
Pez de colores	2.000
Rata	900
Ratón	900
Conejo	800
Rana	700
Pollo	600
Mono	400
Perro	300
Hombre	250-300

Modificado de LATORRE TRAVIS, E.: Radiobiología Médica.
Ed. AC. Madrid 1979. p. 124.

2.- Etapa Latente. Durante esta fase el animal no presenta ninguna sintomatología.

3.- Etapa Florida o de Enfermedad Manifiesta. En ella el animal va a presentar la sintomatología debida a los sistemas afectados.

En la Etapa Florida, la afectación de la médula ósea se manifiesta por fiebre y malestar general ; también existe anorexia, diarreas profusas, deshidratación y desequilibrios hidroelectrolíticos debidos a la afectación gastrointestinal; y la afectación del Sistema Nervioso Central (SNC) se manifiesta con letargia, temblores, convulsiones y coma.

1.3.2.3.2.- EN EL HOMBRE.

Desde la explosión, en Agosto de 1.945, de los ingenios nucleares en Hiroshima y Nagasaki, se han producido desgraciadamente bastantes sucesos que han permitido evaluar "in vivo" los efectos de una exposición completa del organismo humano a dosis únicas de radiaciones ionizantes de distinta cuantía (37) (38) (39) (40) (41) (42) (43).

Todos los estudios efectuados en los casos anteriores y los datos obtenidos en la experimentación animal han permitido la división en varios grados del SICT en el hombre (44) (45) (46). En la FIGURA 6 se presenta una visión global de los distintos grados de afectación y

<u>DOSIS</u>		Hasta 100 cGy	100 - 200 cGy	200-600 cGy	600-1.000 cGy	1.000-3.000 cGy	Mas de 3.000 cGy
<u>PERIODO</u> <u>PRODROMICO</u>	Presentación de náuseas y vómitos	0 %	5-50 %	50-100 %	75-100 %	100 %	
	Inicio		3-6 h.	2-4 h.	1-2 h.	Menos de una hora	
	Duración		24 h.	24 h.	48 h.	48 h.	48 h.
	Incapacitación (de 0 a 100 %)	0 %	0 %	25 % entre 6 y 20 h.	Más del 50 % y más de 24 h.	Incapacitación progresiva hasta 100 %	Incapacitación progresiva hasta 100 %
<u>PERIODO LATENTE</u>	Duración		2 semanas	7-15 días	0-7 días	0-2 días	0-2 días
<u>PERIODO</u> <u>DE ENFERMEDAD</u> <u>MANIFIESTA</u>	Signos y Síntomas		Leucopenia discreta	Leucopenia severa, púrpura, hematuria, infección, depilación (si más de 300 cGy)	Diarrea, fiebre, trastornos electro-líaticos	Convulsiones, temblor, ataxia, coma	
	Inicio desde la irradiación		2 semanas	De unos días a 2 semanas	2-3 días		
	Sistema responsable			Hematopoyético	Gastrointestinal	S.N.C.	
<u>HOSPITALIZACION</u>	Porcentaje		5 %	90 %	100 %	100 %	100 %
	Duración		45-60 días	60-90 días	90-120 días	2 semanas	2 semanas
<u>LETALIDAD</u>	Porcentaje	0 %	0 %	0-80 %	90-100 %	Aprox. el 100 %	100 %
<u>SUPERVIVENCIA</u>	Media	100 %	100 %	De 3 semanas a 2 meses	1-2 semanas	2 días	
<u>TRATAMIENTO</u>			Control hematológico	Transfusiones Antibióticos	Mantener el equilibrio electrolítico	Sedantes	

FIGURA 6: EFECTOS CLINICOS AGUDOS DE UNA IRRADIACION CORPORAL TOTAL A DOSIS UNICAS.

Modificado de VILLALONGA, MARTINEZ, L.M.: Efectos de las armas nucleares. Asistencia a bajas masivas nucleares.
Ed. Romagraf S.A.. Madrid. 1986. p.116

sus repercusiones.

Existen tres distintos Síndromes de Irradiación reconocidos internacionalmente según sea el órgano responsable de su aparición (47) (48): Síndrome del Sistema Nervioso Central, Síndrome Gastrointestinal y Síndrome de la Médula Osea.

1) SINDROME DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

Aparece cuando las dosis recibidas son superiores a los 10.000 cGy, aunque se han descrito algunos casos de aparición con dosis poco mayores de 5.000 cGy.

Los pródromos se inician a los pocos minutos postirradiación, duran como máximo unas pocas horas y consisten en nerviosismo extremo, confusión, náuseas y vómitos graves, sensación de quemaduras en la piel y pérdida de conciencia.

El periodo latente dura como mucho unas horas y a las cinco o seis horas postirradiación se inicia el período de enfermedad manifiesta en el que aparecen convulsiones, shock y muerte.

En este síndrome la causa última del fallecimiento es desconocida y en los estudios posteriores a este no se pueden objetivar en el individuo lesiones del sistema gastrointestinal ni del hematopoyético puesto que su desarrollo es tan rápido que no tienen tiempo de instaurarse (48).

2) SINDROME GASTROINTESTINAL.

Aparece cuando las dosis recibidas oscilan entre 1.000 y 10.000 cGy.

La fase prodrómica se inicia a las pocas horas postirradiación con anorexia, náuseas, vómitos y en ocasiones, además, calambres y diarreas intensas que tienen una duración de aproximadamente 24 horas.

Entre el segundo y el quinto día el individuo está asintomático.

Seguidamente tiene lugar la etapa de enfermedad manifiesta con diarreas, náuseas y vómitos muy graves, produciéndose el fallecimiento de un 90-100 % de los individuos afectados entre el séptimo y catorceavo día postirradiación, aunque se instaure tratamiento médico, debido a deshidratación, infecciones y desequilibrio hidroelectrolítico (49) (50) (51) (52) (53).

3) SINDROME DE LA MEDULA OSEA.

Aparece con dosis inferiores a los 1.000 cGy y también en los supervivientes del Síndrome Gastrointestinal.

En las primeras horas postirradiación presentan náuseas y vómitos que pueden durar desde unas horas a unos días.

En el periodo latente, que dura desde unos 10 días hasta 3-4 semanas, el individuo se recupera y está asintomático. A partir de este momento se instaura la etapa de enfermedad manifiesta en la que presenta una pancitopenia con toda la sintomatología consecuente; infecciones debidas a la leucopenia, hemorragias, que van desde petequias y hematuria leve, hasta hemorragias intensas, debidas a la plaquetopenia, y anemia que si no hay hemorragias graves no suele observarse puesto que la vida media del hematíe es de 125 días y en este período el índice mitótico de la médula ósea ya se ha restablecido (54).

1.3.3.-COMPUESTOS RADIOPROTECTORES.

1.3.3.1.- TIOLES (ELIMINADORES DE RADICALES LIBRES).

1.3.3.1.1.- INTRODUCCION.

El estudio de los tioles como radioprotectores está ya en la quinta década y, como consecuencia, existe una gran cantidad de bibliografía al respecto (55) (56) (57). En efecto, hace más de 40 años que Barron, en 1946 (2), demostró por primera vez que el Glutación protegía a una solución enzimática contra su inactivación por las radiaciones ionizantes. Un poco más tarde Patt y cols. (3), presentaron un informe en el que se detallaba la capacidad de la cisteína para proteger a unos animales contra la muerte provocada por la irradiación corporal total.

Con posterioridad se desarrolló el muy extenso programa de investigación y síntesis de compuestos radioprotectores que ya se ha mencionado con anterioridad y que fué patrocinado por la administración de los Estados Unidos, el cual demostró que un número relativamente pequeño de compuestos, en su mayoría aminotioles y sus derivados, presentaban una marcada capacidad de radioproteger a pequeños animales de laboratorio cuando eran administrados (inyectados) poco antes de la irradiación de los mismos (6) (58). En años siguientes, se prestó gran atención al papel jugado por el Glutación

(GSH), el tiol más abundante en el medio intracelular, en la protección celular contra el daño por radiación (59) (60) (61) (62). Estos estudios se estimularon de modo notorio mediante la introducción del compuesto butionina sulfomixina, que es un potente inhibidor celular de la síntesis del GSH (63) y que permitió averiguar la influencia de las fluctuaciones de los niveles intracelulares del GSH en la radiosensibilidad celular (64).

A pesar de que era un número relativamente pequeño comparado con la gran cantidad de compuestos probados, un gran número de aminotioles pueden brindar protección en células animales tanto en los cultivos celulares como en el nivel orgánico pleno ("in vivo" e "in toto"). Los experimentos realizados con cultivos celulares han demostrado (65) que el grado de protección guarda una correlación con la concentración extracelular del compuesto. Probablemente el factor concentración en el inmediato entorno celular "in vivo" tenga una importancia parecida pero esas concentraciones son mucho más difíciles de determinar y además están implicados otros factores a ese nivel, como por ejemplo el grado de hipoxia.

Se admite que para la protección intracelular es precisa la penetración intracelular de un tiol exógeno pero no se excluye que también esten implicados los cambios que estos tioles provoquen en los tioles endógenos (65).

Si consideramos que la principal estructura diana a nivel intracelular para las radiaciones ionizantes es el DNA, debería ser importante el conocer la concentración de tioles, tanto exógenos como endógenos, en

sus proximidades. Sin embargo es muy poco lo que conocemos sobre las concentraciones de los tioles en los compartimentos celulares (66).

De entre todos ellos los que mayor índice de radioprotección brindan en la actualidad son los aminotioles.

Doherty y cols. determinaron por primera vez, en 1.957 (67), la conformación estructural de los aminotioles que tenían un efecto radioprotector eficaz y vieron que seguía el siguiente patrón: un grupo sulfidrilo libre o latente separado por no más de tres átomos de carbono de un grupo funcional de nitrógeno.

Los aminotioles pueden ser endógenos o pueden suministrarse exógenamente. Los exógenos, pues, deben ser transportados activa o pasivamente al medio intracelular y deben estar presentes en las inmediaciones del DNA celular en el momento de la irradiación. Debido a su rápida metabolización por el organismo, la administración debe realizarse durante un corto espacio de tiempo antes de la irradiación. La clasificación de los aminotioles, con algunos ejemplos de los mismos, se expone en la FIGURA 7.

Las investigaciones actuales se dirigen con preferencia al estudio de los aminotioles exógenos debido al hecho de que el aminotiol más importante presente en la célula, el glutatión, tiene poco efecto radioprotector (65) a pesar de que su deplección aumenta la radiosensibilidad celular, especialmente en condiciones hipóxicas.

Los resultados obtenidos por varios autores

FIGURA 7. Clasificación de los Tioles.

ELIMINADORES DE RADICALES LIBRES. TIOLES.

1.-TIOLES ENDOGENOS (Tioles aniónicos).

1.1.-Glutación.

1.2.-Cisteina.

1.3.-Mercaptosuccinato.

2.-TIOLES NEUTROS.

2.1.-Mercaptoetanol.

2.2.-Ditiotrolol.

3.-TIOLES EXOGENOS (Tioles catiónicos).

3.1.-Cisteamina.

3.2.-WR-2721.

3.3.-WR-1065.

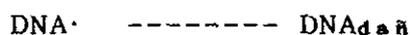
3.4.-WR-3689.

como Vos y Roos-Verhey (65), sugieren en primer lugar que los tioles exógenos son capaces de brindar un efecto radioprotector sin cambiar los niveles de glutatión endógeno, en segundo lugar que con los compuestos que en la actualidad consiguen elevar ligeramente los contenidos de glutatión endógeno se consigue una pequeña radioprotección in vitro y, por último, que los ésteres del glutatión parece que solo tienen un pequeño efecto radioprotector.

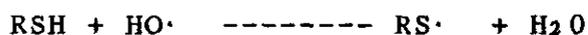
Se admite generalmente que la causa primaria de la muerte celular causada por las radiaciones ionizantes es el daño al DNA, a pesar de que la relación exacta causa efecto no está clara.

Hutchinson, en 1985 (68), publicó un trabajo en el que se recopilaban todos los conocimientos de los que se disponía hasta la fecha en el sentido de cómo las radiaciones ionizantes lesionan al DNA y se planteaban asimismo dos mecanismos posibles de protección del DNA por los tioles. Pasemos a exponerlos de forma muy resumida.

Se considera que el producto más dañino para el DNA es el radical hidroxilo. También se conoce que éste radical reacciona con más frecuencia con las bases del DNA y con una frecuencia menor con los azúcares, siendo la reacción con el fosfato prácticamente insignificante, formando en cualquiera de los casos un radical DNA (DNA \cdot). Este radical DNA puede sufrir otras transformaciones que conducen a un DNA dañado (DNA $_{dañ}$).



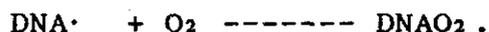
Los tioles reaccionan con los radicales hidroxilo casi exclusivamente mediante la donación de un átomo de hidrógeno procedente del enlace SH. Se produce la formación de un radical tiilo (RS·), que no es lo suficientemente reactivo para causar daño al DNA, y formación de agua.



Una segunda forma de protección del DNA por los tioles sería mediante la reparación química del DNA, mediante la donación de un átomo de hidrógeno.



Esta reacción ocurre en competición con la reacción del DNA con el oxígeno (69) (70) (71) que se muestra a continuación y que produce un radical peróxi del DNA (DNAO₂·).



Radical que a su vez puede sufrir diversas reacciones que también conduzcan a la producción de daño en el DNA (DNA_{dañ}) (69) (70) (71).

A lo largo de los años han sido propuestas

otras hipótesis, además de las anteriores, para explicar la radioprotección obtenida mediante los tioles. Varios autores, como por ejemplo Klayman y Copeland (58), las han enumerado y discutido. Estas incluyen, donación de átomos de hidrógeno por los tioles a los radicales libres inducidos por la radiación en competición con la reacción de estos radicales con el oxígeno, lo que se denomina el modelo de reparación-fijación (69), inducción de hipoxia por los tioles (72) (73), quelación de metales, y producción de disulfidos.

Asimismo está demostrado que el efecto radioprotector de los tioles depende de la concentración de oxígeno en las células (74). La adición de aminotioles a cultivos celulares irradiados en anoxia o en oxigenación plena tiene muy poco efecto radioprotector, en cambio su efecto radioprotector es marcado en los cultivos celulares que tienen unas presiones de oxígeno intermedias, especialmente en aquellas que están en los niveles de transición gradual entre la radiosensibilidad de la plena oxigenización y la resistencia hipóxica. Esta dependencia crítica del oxígeno para la radioprotección de los aminotioles ha sido plenamente demostrada para las bacterias (75), para células de mamíferos in vitro (76) (77) (78) y para un cierto número de tejidos normales in vivo (74) (79) (80).

Como se ha mencionado anteriormente, el hecho de que los radicales OH^- pueden dañar al DNA irradiado en solución ha sido demostrado en varias ocasiones (81) (82) (83). Debido a que los tioles reaccionan con mucha rapidez con los radicales OH^- (84), podría esperarse que protegieran al DNA o a sus constituyentes irradiados en soluciones acuosas; extremo que también ha sido demostrado (30) (85) (86).

Los datos presentados por Held (87) a partir de estudios realizados con DNA en solución son claramente consistentes con la idea de que los tioles protegen al DNA irradiado mediante una combinación de dos procesos: eliminación de radicales OH^- y donación de átomos de H.

También concuerdan con los trabajos de van Hemmen et al. en 1974 (88) y de Lafleur et al. en 1980 (89) sobre DNA demostrando que la cisteamina protege contra la inducción de roturas simples y contra la inactivación biológica pero no protege contra el daño a los nucleótidos.

Existen numerosos trabajos en la literatura mundial que muestran la correlación existente entre la eliminación de radicales OH^- y la disminución del daño al DNA en células irradiadas de mamíferos, como por ejemplo el de Roots y Okada en 1972 (90) que los relaciona con la disminución de roturas de los filamentos del DNA, el de Sasaki y Masubara en 1977 (91) que lo relaciona con la disminución de la frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos de sangre periférica, y los de Roti Roti y Cerutti en 1974 (92) y el de Remson y Roti Roti en 1977 (93) que lo relacionan con formación de lesiones en las bases del DNA .

Un trabajo reciente de Held en 1986 (94) muestra que cuando la irradiación es en el aire, los factores de protección pueden llegar a ser de 4 para los eliminadores de OH^- no tiolicos y de más de 7 para los tioles. Aproximadamente, un 70% del daño radioinducido en el DNA en medio no anóxico puede ser prevenido mediante eliminadores de OH^- no tiolicos; y se ha estimado que con los tioles puede prevenirse hasta un 85% (90) (95) (96).

Los estudios realizados con los componentes nonoméricos del DNA y los datos obtenidos con el DNA de doble hélice han suministrado evidencias en favor de la protección del DNA por los tioles mediante un aumento de la eliminación de radicales hidroxilo y de los mecanismos de reparación de los radicales de DNA. Existen evidencias (97) de que los tioles catiónicos están concentrados cerca del DNA mientras que existe una deplección de los aniónicos en las cercanías del DNA.

En los estudios más recientes (98) se ha medido la protección del DNA por los tioles mediante la liberación de bases libres después de irradiación gamma y sus resultados muestran que los tioles catiónicos son mejores radioprotectores que los neutros y estos a su vez que los aniónicos.

A lo largo de muchos años se ha investigado sobre los tioles y se han desarrollado varias teorías explicando el mecanismo de acción de estos compuestos. Estos incluyen el papel en la protección de los distintos componentes celulares (DNA, proteínas, membranas) y sus efectos en la replicación, reparación y dinámica celular pero, a pesar de todo, no se ha clarificado la razón del porqué unos tioles son superiores a otros en cuanto a su efecto radioprotector.

A partir de los estudios en cultivos celulares se ha demostrado que, para los aminotioles, el grado de protección guarda correlación con la concentración del compuesto en el medio (99), y puede asumirse que una situación similar existe para el microambiente de las células. Por lo tanto es muy importante el poder conocer la concentración intracelular

(100) y su concentración en la vecindad inmediata de la molécula blanco en la célula. Se han efectuado intentos de determinar la concentración intracelular mediante el empleo de compuestos marcados (101) (102) o mediante técnicas de cromatografía (103) con cierto grado de éxito, pero poco es lo que se conoce en la actualidad sobre la concentración de los aminotioles en varios compartimentos celulares.

1.3.3.1.2.-TIOLES ENDOGENOS.

La célula contiene un complejo sistema de defensa interrelacionado antioxidante consistente en tioles no proteínicos (glutación, cisteína), tioles proteínicos, superóxido dismutasa (SOD), Catalasa, nucleotín adenosin difosfato reducido (NADPH), vitaminas C y E y varios sistemas enzimáticos (83). Todo ello sirve para la protección contra los radicales libres generados durante el metabolismo oxidativo normal, por el metabolismo de compuestos o por exposición a las radiaciones.

Debido a que el Glutación representa aproximadamente el 90% de todos los tioles intracelulares (7), nos centraremos en él al hablar de los tioles endógenos.

1.3.3.1.2.1.-GLUTATION.(GSH).

En 1.979, Alper (104) propuso que la

radioresistencia celular a bajas tensiones de oxígeno se debe en parte a la capacidad de donación de hidrógeno de los compuestos reductores intracelulares. Es una consecuencia lógica el que se haya prestado una gran atención investigadora al Glutati6n, que quimicamente es un tripéptido que contiene grupos sulfidrilos, debido a su prevalencia en el medio intracelular (59) (60) (61) (105) (106) (107) (62), a pesar de que existen grandes variaciones en el contenido de GSH entre distintas líneas celulares (108) (109), entre las diferentes fases del cultivo celular (110), bajo distintas condiciones de cultivo (111), y en las distintas fases del ciclo celular (112). Ohara y Tharasima (112) y Sinclair (113), en 1969, informaron que la resistencia a la radiaci6n X varía en forma sincr6nica con el contenido de GSH.

Ha sido demostrado en repetidas ocasiones que los tioles intracelulares (es decir el GSH) protegen a las células contra el stress oxidativo reaccionando con los per6xidos e hidroper6xidos (114) (105). La reacci6n del oxígeno con los radicales orgánicos producidos por la radiaci6n produce radicales peroxi, que pueden ser reducidos por el GSH a hidroper6xidos (115). Los hidroper6xidos pueden entoces ser reducidos a hidroxilos intermedios mediante reacciones catalizadas por la GSH-peroxidasa y la GSH-S-transferasa, enzimas que utilizan al GSH como substrato (115) (116) (117). Estos hidroxilos intermedios pueden entrar subsecuentemente en el metabolismo lipídico y prevenir reacciones en cadena adicionales a partir de las que ocurren en las macromoléculas (115).

El GSH no puede ser transportado a través de la membrana celular desde el medio extracelular hasta la célula (118) (119) (120), pero es sintetizado

intracelularmente por el ciclo gamma-glutamil (121).

La FIGURA 8 (31) representa, esquematizados, el metabolismo del GSH y su papel en los procesos celulares de detoxificación. Además de actuar en el modelo competitivo, el GSH reacciona con los compuestos electrófilos, como los agentes alquilantes, para detoxificar a estos agentes con la enzima glutatión-S-transferasa (21) .

Gran parte de los datos referidos al papel que juega el GSH en la radioprotección de las células de los mamíferos se han obtenido de los estudios de los efectos de la depleción de GSH. Las evidencias directas del papel del GSH intracelular en la radiosensibilidad celular se obtuvieron de los experimentos realizados con células que tienen bajo contenido en GSH. Para estos estudios se usaron bacterias y células humanas con un bajo nivel de GSH determinado genéticamente (103) (122) (123). Además se estudiaron los efectos de la influencia en la depleción celular de GSH en la radioresistencia con células en las cuales el nivel de GSH fue disminuido mediante incubación en medio que contenía butionina sulfoximina (BSO) (124) (125) (126).

La BSO inhibe la síntesis de GSH, y se obtienen unos niveles muy bajos de GSH en un tiempo relativamente corto y sin una toxicidad apreciable. Cuando se disminuye rápidamente los niveles de GSH (en unas pocas horas) hasta alcanzar niveles menores al 5% del valor control se obtiene un pequeño nivel de radiosensibilización (106) (116). Una exposición prolongada a la BSO, que tiene como consecuencia una depleción crónica de GSH, conduce a una radiosensibilización mucho mayor (106) .

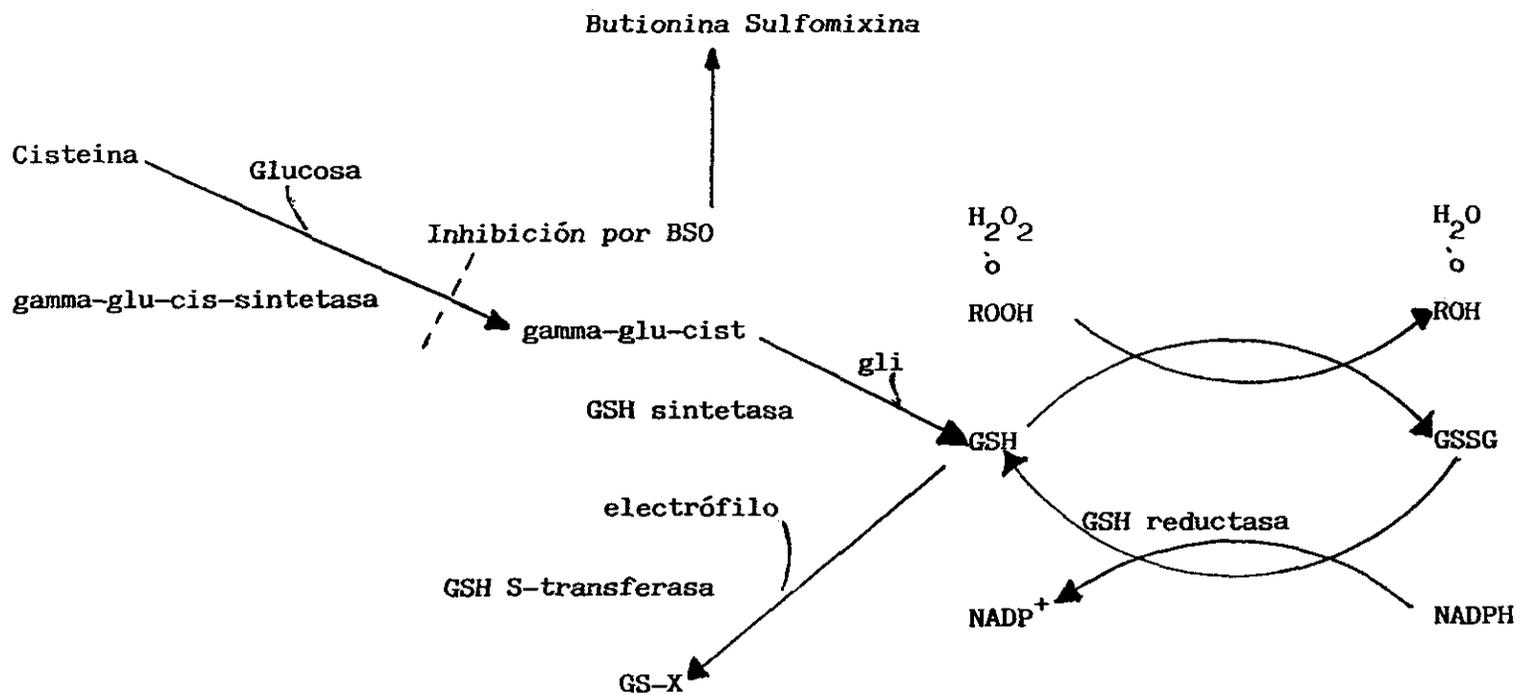


FIGURA 8 : METABOLISMO DEL GSH.

Tomado de : COLEMAN, C.N., BUMP, E.A., KRAMER, E.A.: Chemical modifiers of cancer therapy.

J. Clin. Oncol. 1988. 6:709-733.

Biaglow, Varnes, Epp y Clarks, en 1988, (127) han sugerido que la deplección del GSH intracelular produciría una radiosensibilización aeróbica debido a que los peroxi o hidroperóxidos intermedios, producidos por la radiación, son tóxicos, y su ruptura conduciría a la formación de malondialdehído (MDA), que, a su vez, tiene un efecto tóxico y mutagénico (114) (115) (128) (129) (130). La deplección de GSH in vivo e in vitro produce una inhibición de la GSH peroxidasa y se ha demostrado que produce peroxidación lipídica (114) (131). Se ha demostrado que la elevación de los niveles intracelulares de la GSH peroxidasa provoca protección contra la mutagénesis inducida por las radiaciones (59) (131) y frente a la radiación corporal total (132).

Los resultados de los estudios efectuados son coincidentes en la conclusión de que las bajas concentraciones de GSH provocan una radiosensibilización, especialmente bajo condiciones hipóxicas o anóxicas (61).

Van der Schans y cols., demostraron en 1986 (133), que en células cultivadas de mamíferos se conseguía una reconstitución de los radicales libres producidos por la radiación en las moléculas críticas mediante la donación de hidrógeno por parte del glutatió n y que esta reconstitución era considerable unicamente cuando el GSH puede competir con el oxígeno en la reacción con esos radicales.

Esto significa que el grado en que el aumento o la deplección de GSH intracelular afecta a la radiosensibilidad depende en gran manera de la concentración local de oxígeno, y si además tenemos en

cuenta que a los cultivos celulares se les aplica una mayor concentración de oxígeno que aquella que tendrían los mismos tejidos "in vivo" (134), podremos aventurar una de las posibles razones del poco efecto radioprotector de este compuesto.

Révész y otros investigadores (135) (136) (137) sugirieron que la protección mediante tioles exógenos puede ser causada indirectamente por un incremento de la concentración del GSH celular debido a la liberación de GSH por las proteínas intracelulares.

La elevación directa del GSH intracelular mediante aporte de GSH exógeno no es posible porque el GSH no es transportado al interior celular en cantidades apreciables. Además GSH inhibe por feedback a la enzima gammaglutamilcisteinasintetasa, regulando así su síntesis (87). Esto limita, efectivamente, el nivel al que se puede aumentar las concentraciones intracelulares de GSH mediante el suministro de sus aminoácidos componentes a uno no mucho mayor que los niveles intracelulares normales.

Una forma muy prometedora de aumentar el contenido de GSH intracelular fué descrita por Puri y Meister en 1983 (119), quienes observaron unos incrementos sustanciales del contenido de GSH en el hígado y en los riñones del ratón tras la administración de ésteres monometílicos y monoetilílicos del GSH. Atribuyeron sus hallazgos a que los ésteres eran transportados al interior celular y a su paso posterior a GSH.

Wellner y cols. en 1984 (120) comunicaron que se producía una elevación significativa del contenido de GSH en los fibroblastos normales humanos, después de su

incubación en un medio que contenía éster monoetilico de GSH. Los mismos autores describieron también un incremento de los niveles de GSH en células linfoides humanas después de la incubación en un medio que contenía un éster del GSH y una radioprotección de dichas células, aunque en sus datos no se especificó el grado de radioprotección obtenido. Anderson y cols. publicaron en 1985 (138) un trabajo en el que informaron de todo el proceso de preparación del monoetil éster de GSH, de su incorporación a los tejidos y de su conversión a GSH, después de su administración por vía oral e intraperitoneal al ratón.

Efectivamente, al contrario de lo que ocurre con el GSH, el glutatión monoetil éster es transportado intacto al interior celular y allí es deesterificado pasando a GSH (138), con lo que se consiguen incrementos hasta de 3-4 veces los valores normales intracelulares (119) (120) (139).

Asimismo, los niveles intracelulares de GSH pueden elevarse empleando oxotiazolidina-4-carboxilato (OTZ) (139). Se ha visto que una elevación de los niveles de GSH hasta aproximadamente el doble de su valor, proporciona una modesta radioprotección a las células linfoides humanas (118) pero no lo hace en las células linfoides del hamster chino (140) (141). Además, un aumento de los niveles intracelulares de GSH hasta 3-4 veces superiores a los valores control, mediante el empleo de ésteres del GSH, no ha brindado una radioprotección apreciable (142).

No está clara la razón del porqué se obtiene radioprotección con el OTZ en las células linfoides humanas y no en las del hamster chino. Puede ser que los dos tipos de células tengan diferencias enzimáticas en los

sistemas que metabolizan al OTZ. Las células linfoides humanas puede que no utilicen completamente al OTZ y por esa razón pueden elevarse los niveles de cisteína. En este caso un aumento puede resultar en una protección independiente del GSH. En el caso de los estudios con los ésteres del GSH, puede que exista una producción de peróxido intracelular por los ésteres del GSH que provoque un stress adicional a las células irradiadas y que impida cualquier mejoría en la radioprotección debida a los niveles incrementados de GSH (142).

Los datos suministrados por Russo y Mitchell en 1984 (140) y por Vos y Roos-Verhey en 1988 (65), no indican que el GSH intracelular sea por si mismo un radioprotector eficaz. Por lo tanto, la teoría expuesta por Revesz (135) y por Sjöberg y sus colaboradores (143), que atribuía al GSH propiedades específicas de donación de hidrógeno, que lo convertían en un radioprotector efectivo, no han podido ser confirmadas por los trabajos de otros investigadores (65) (140). Held y cols., en 1984 (30), llegaron también a la conclusión de que el GSH no era efectivo en la reacción de reparación del daño radioinducido mediante donación de hidrógeno al DNA lesionado.

Los resultados publicados por Vos y Roos-Verhey en 1988 (65), en el sentido de que el GSH no es transportado por si mismo al medio intracelular a través de la membrana celular y que, por lo tanto, altas concentraciones de GSH en el medio extracelular no causan practicamente elevación en la concentración intracelular concuerdan con los datos de Dethmers y Meister (126) y de Jensen y Meister (118), publicados en 1981 y 1983 respectivamente. Asimismo, el trabajo de Vos y Roos-Verhey (65) ha confirmado que los ésteres del GSH

pueden ser usados como un sistema de suministro de GSH al medio intracelular, pero no ha confirmado que se produzcan los grandes aumentos en la concentración de GSH intracelular que fueron descritos por Wellner y cols. (120).

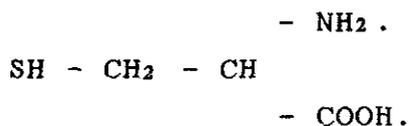
En resumen, son necesarios más estudios para clarificar las cuestiones pendientes, pero, todos los estudios de los que disponemos en la actualidad indican que, contrariamente a las estimaciones anteriores, el GSH no sería un radioprotector intracelular de gran importancia (144).

1.3.3.1.2.2.-CISTEINA.

En 1949, Harvey Patt (3) descubrió que la cisteina proporcionaba una considerable protección al ratón frente a la muerte producida por la irradiación corporal total. La dosis que se requería para conseguir la misma letalidad fué casi el doble en los animales que recibieron el compuesto comparados con los que no lo recibieron.

Fué el primer compuesto radioprotector que se describió, pero al igual que muchos otros, su toxicidad obligó a descartar su empleo en seres humanos (145).

Su estructura química es la siguiente:



1.3.3.1.3.-TIOLES EXOGENOS.

1.3.3.1.3.1.-CISTEAMINA.

Fué, durante mucho tiempo, el patrón con el que se comparaba la efectividad radioprotectora de otros compuestos, pero presenta una toxicidad mayor que la del WR-2721 (13), por lo que al sintetizarse este último su empleo perdió vigencia, aunque han seguido publicándose estudios de sus posibles aplicaciones, y fué sustituido por el WR-2721 como radioprotector "patrón" (145).

Su estructura química es la siguiente:



Como ejemplo de los estudios que han seguido realizándose consideraremos los efectuados por Lohman y cols. (146) y también por Sawada y Okada (147) en 1.970, quienes publicaron la observación de que la cisteamina podría disminuir la producción de roturas simples del DNA (SSBs) en las células irradiadas.

En estudios recientes (148), en los que se muestra que la cisteamina altera de diversas formas los niveles de producción de roturas simples y dobles en el DNA, trasposiciones en las proteínas del DNA, y de lesiones en las bases (149), se sugiere que este aminotiol en particular podría producir un cambio en el espectro de las lesiones en el DNA.

Gren y cols. (150) , sugieren tras los resultados de su estudio efectuado en 1.987, que la cisteamina actua como un reductor del daño producido por la radiación gamma sin afectar la reunificación de los filamentos rotos del DNA.

1.3.3.1.3.2.-WR-2721.

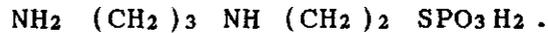
INTRODUCCION.

WR-2721 son las siglas de identificación del Acido S-2(3-aminopropilamino)etilfosforotioico que fué el compuesto más efectivo como radioprotector químico de los 4400 sintetizados y probados por el Antirradiation Drug Development Program que, patrocinado por el U.S. Army Medical Research and Development Command, se desarrolló entre los años 1959 y 1973 (6) (7) (8) y es, a pesar de sus efectos secundarios que veremos más adelante, el mejor radioprotector que disponemos en la actualidad y uno de los menos tóxicos de los aproximadamente 1.000 compuestos sulfidrílicos probados en el mencionado programa (9).

ESTRUCTURA QUMICA, FARMACOLOGIA Y SECUENCIA DE ACTUACION.

El WR-2721, también conocido como ethiofos, es un derivado fosforotioado de la cisteamina (151).

Su estructura química es la siguiente (145):



La farmacocinética del WR-2721 ha sido y está siendo investigada por varios grupos de trabajo (152) (153) (154) (155) (156) en un intento de establecer los parámetros farmacocinéticos en humanos para así optimizar las dosis y procedimientos de administración y poder mejorar sus efectos radioprotectores. Shaw y cols. (154) (157), empleando una técnica específica de cromatografía líquida de alta densidad (154), han medido los niveles plasmáticos del WR-2721 y de su metabolito WR-1065. Los pacientes recibieron una dosis de WR-2721 de 150 mg/m² en un bolus por vía intravenosa. La mayor parte del WR-2721 desaparece del plasma en unos 10 minutos. La excreción renal del WR-2721 y del WR-1065 fué mínima (menor del 10%). Los resultados de estos estudios sugirieron a Shaw y cols. (157) que el WR-2721 abandona rápidamente el plasma y penetra en el interior celular donde es transformado en sus metabolitos.

Los datos anteriores son consistentes con los resultados obtenidos en la rata donde también se ha estudiado su farmacocinética (152) (158). En el modelo animal asimismo se ha encontrado una rápida desaparición de los niveles de WR-2721 en plasma desapareciendo la mayor parte (más del 95%) en unos 5 minutos. Además, parece ser que la mayor parte del WR-2721 es convertido en el interior celular en WR-1065.

Los estudios llevados a cabo por Yuhas en 1980 (159) y por Afzal y cols. (160) en 1982, en ratas, analizando las concentraciones de WR-2721 en plasma,

tejidos sanos y tejidos tumorales, después de la inyección intraperitoneal de 200 mg/Kg de WR-2721 mostraron que, mientras la concentración plasmática y cerebral del compuesto decrecía proporcionalmente al tiempo transcurrido postinyección, la concentración en el hígado y en los otros tejidos normales seguía aumentando, lo que indicó que dichos tejidos podían concentrar activamente al WR-2721 contra un gradiente de concentración. Por el contrario la concentración de WR-2721 en los tejidos tumorales se aproximaba gradualmente a un equilibrio con los niveles decrecientes de concentración en el plasma, lo que sugería una cinética de absorción pasiva.

Actualmente se conoce (161) que el mecanismo de concentración activa del WR-2721 en los tejidos normales es una difusión facilitada en la que el compuesto, una vez en el interior celular, es desfosforilado y se liga a las macromoléculas endógenas, permitiendo de este modo la entrada de más compuesto.

Los estudios efectuados con tejidos de mamíferos plantearon la posibilidad de que el WR-2721 y los fosforotioatos con estructura similar, como la cisteamina S-fosfato, eran hidrolizados tanto por la fosfatasa ácida (162) (163) como por la fosfatasa alcalina (164) (165) (166). Grandes cantidades de preparaciones purificadas de dos diferentes isoenzimas de fosfatasa ácida humana no tuvieron efecto o tuvieron muy poco en la hidrólisis del WR-2721 (154). Sin embargo, preparaciones purificadas de fosfatasa alcalina del intestino humano y de ternero, fueron en ambos casos catalizadores muy activos de la hidrólisis del WR-2721. Estos datos sugirieron la posibilidad de que la fosfatasa alcalina, una enzima de la membrana plasmática (167), fuera la enzima que catalizara la hidrólisis del WR-2721 para

producir WR-1065 in vivo. Las observaciones realizadas por Calabro-Jones y cols. en 1985 (168) respecto a que la adición de fosfatasa alcalina a células V79-171 que estaban incubadas en un medio que contenía WR-2721, produjo una acumulación intracelular de WR-1065, apoya la hipótesis de que la fosfatasa alcalina es el catalizador responsable de la hidrólisis del WR-2721 y de su subsecuente transformación en WR-1065 in vivo.

MECANISMO DE ACCION.

Se han propuesto bastantes mecanismos para explicar los efectos radioprotectores de los fosforotioatos y de los otros antimutógenos. Entre ellos están: Eliminación de los radicales libres (29), donación de H para reparar los radicales libres en las moléculas diana (71) inducción de hipoxia química o bioquímica (73), estabilización de las moléculas diana mediante unión al DNA (169), formación de mezclas de bisulfidos (170) y una elevación general de la protección frente al stress oxidativo (171). De todas ellas las tres primeras merecen probablemente una consideración más seria que las otras (171). Tanto la donación de H como la inducción de hipoxia pueden considerarse como una herramienta de una hipótesis modificada de fijación de oxígeno para las lesiones radioinducidas (172).

Estudios posteriores han demostrado que el grado de radioprotección depende de las dosis de WR-2721 administradas (173) y del intervalo de tiempo entre la administración del compuesto y la exposición a las radiaciones (173) (174).

Los trabajos de Rilis y Green en 1983 y 1987 respectivamente (66) (150), sugieren que el WR-2721 aumenta la supervivencia celular actuando como un reductor del daño provocado por la radiación gamma, incrementando la reparación del DNA y favoreciendo la reunificación de los filamentos rotos del DNA.

ESTUDIOS PRECLINICOS. RESULTADOS.

La efectividad del WR-2721 como radioprotector químico contra la muerte producida en los roedores por los síndromes hematopoyético y gastrointestinal, ocasionados por la ICT, fúe notificada en primer lugar por Yuhas y Storer en 1969 (175). Asimismo, estos investigadores informaron que el WR-2721 tenía un efecto radioprotector sobre ciertos tejidos sanos (piel y médula ósea con unos FRD de 2,4 y 2,7 respectivamente) sin incrementar la radioresistencia de los tumores sólidos mamarios inducidos en estos animales (176). Desde entonces la protección brindada por el WR-2721 a los tejidos normales de los roedores contra la radiación, ya sea fraccionada o en dosis unica, ha sido exhaustivamente estudiada. La FIGURA 9 expone los FRD para dosis mayores de 10 Gy y para dosis de WR-2721 iguales ó mayores a 400 mg/Kg en distintos tejidos normales de ratón y de rata, con referencias bibliográficas de algunos investigadores y equipos de trabajo que los han descrito. Como puede verse, los valores varían desde 1,2 para el pulmón hasta 3.0 para la médula ósea.

A pesar de que se ha constatado que el WR-2721 protege no selectivamente a algunos tumores

FIGURA 9.

<u>TEJIDO</u>	<u>FRD.</u>	<u>REF. BIBLIO.</u>
Médula ósea	1.6-3.0	(177)
Yeyuno	1.6-2.1	(173) (177) (178) (179)
Piel	1.4-2.1	(180) (181)
Testículo	1.4-1.6	(173) (182)
Esófago	1.4	(177)
Mucosa oral	1.7	(183)
Glándula salivar (*)	1.7-2.5	(184) (185)
Pulmón (neumonitis)	1.2-1.6	(177) (186)
Pulmón (fibrosis)	1.5-1.8	(186)
Riñón	1.3-1.5	(177) (187)
Vejiga	1.3-1.5	(188)
Hígado (*)	2.0-2.7	(20) (189)
Músculo (atrofia)	1.5-2.0	(190)

Factores de Reducción de Dosis (FRD) brindados por el WR-2721 en diversos tejidos normales de ratón y rata (*) para dosis de radiación mayores de 10 GY y para dosis de WR-2721 iguales o mayores a 400 mg/Kg.

experimentales (163) (174), comparada esta protección con la que brinda a los tejidos normales ha resultado ser prácticamente inexistente (176) (177) (191).

Resumiendo, si exceptuamos que no protege al cerebro (192) ni a la médula espinal (159) cuando se administra sistémicamente, la expectativa básica de que el WR-2721 puede mejorar la efectividad de la radioterapia de los tumores sólidos permanece intacta.

En los modelos animales, protege selectivamente a los tejidos normales contra las citotoxicidades de cisplatino, ciclofosfamida y mostaza nitrogenada (193) (194) (195). Aumenta la tolerancia renal al cisplatino con factores de 1.3-1.7 (193), aumenta la tolerancia de la médula ósea a la ciclofosfamida y a la mostaza nitrogenada con factores de 1.5-2 y 2-4 respectivamente (194) (195).

Por tanto, la combinación de WR-2721 con agentes alquilantes quimioterápicos o con la radioterapia debería, teóricamente, permitir la administración de dosis significativamente más elevadas, lo que nos llevaría a una mayor muerte celular tumoral con la ventaja de una toxicidad en el huésped disminuida (14).

PROTECCION SELECTIVA.

De todos los datos anteriores se deduce que, en el modelo animal, el WR-2721 protege selectivamente a los tejidos normales contra la citotoxicidad de la radiación y de los agentes alquilantes quimioterápicos.

HIPOTESIS QUE LA EXPLICAN.

El mecanismo de la protección selectiva del WR-2721 no se ha desentrañado completamente, pero parece tener relación con su absorción diferente por los tejidos sanos y los tumorales. Se concentra rápidamente en la mayoría de los tejidos normales por un proceso de difusión facilitada, mientras que la mayoría de los tumores sólidos absorben mínimas cantidades del compuesto por absorción pasiva (159). Yuhas y cols. (196) también demostraron que la hidrofiliidad es un factor fundamental en la capacidad del WR-2721 de ser absorbido selectivamente por los tejidos normales.

Se ha atribuido esta gran variación de la radioprotección de unos órganos/tejidos a otros a las siguientes causas :

a) Incorporación del WR-2721, que es , por ejemplo, grande en las glándulas submandibulares (197) y pequeña en el SNC y en la mayor parte de los tumores sólidos (198) (199) (200).

b) Los niveles tisulares y celulares de la pO_2 , que pueden ser o demasiado altos (p. ej. pulmón) o demasiado bajos (p. ej. tumores) para permitir una competición efectiva con el radioprotector de acuerdo con el modelo competitivo de radioprotección (29) (201).

c) Variaciones específicas intertisulares de los niveles de fosfatasa alcalina (202), que es la que activa (defosforilándolo) al WR-2721 y lo convierte en el

protector sulfidrílico activo, el WR-1065. El argumento para esta explicación viene de las demostraciones efectuadas en el sentido de que el WR-2721 es defosforilado por la fosfatasa alcalina y no por la fosfatasa ácida (154) (168) (203). Asimismo esto explicaría la significativa protección por el WR-2721 del sistema gastrointestinal, de los hepatocitos, de los vasos y de la glándula parótida y la inusual falta de incorporación y de radioprotección por parte del WR-2721 de los cultivos celulares (204) (205).

CONTROVERSIA RESPECTO A LA RADIOPROTECCION SELECTIVA

Para que tengan un empleo terapéutico, los radioprotectores deben proteger a los tejidos sanos en mayor grado que a los tumorales. A pesar que los estudios iniciales que se efectuaron con el WR-2721 no demostraron que protegiera a los tumores sólidos (194) (206), estudios más recientes han demostrado que puede producirse un cierto grado de protección tumoral (174) (207). En general, la información de que se dispone demuestra que, en todo caso, los tumores están protegidos en menor grado que los tejidos sanos (186). La protección de los tumores por el WR-2721 depende en gran medida del tamaño del tumor en el momento de la radioterapia (173) (207). La ausencia de radioprotección en los tumores grandes puede atribuirse a la no accesibilidad del WR-2721 a las células tumorales debido al deficiente aporte vascular tumoral o a la incapacidad del WR-2721 para proteger a las células hipóxicas (que constituyen una fracción significativa del

total celular en un tumor grande). Existen abundantes evidencias que demuestran que el WR-2721 protege pobremente a las células hipóxicas frente a la radiación mientras que brinda la mayor protección a las células oxigenadas (72) (74) (186). En cuanto a su aplicación en los tratamientos radioterápicos, debemos considerar que si la hipoxia es un factor restrictivo importante en la radioprotección tumoral, ésta se pierde en gran manera en los tratamientos con un fraccionamiento diario convencional (una sesión por día, cinco días por semana) debido a que puede producirse la reoxigenación tumoral.

PROPIEDADES ANTIMUTAGENICAS,
ANTITRANSFORMACION Y ANTICARCINOGENICAS.

La radiación y la quimioterapia son dos modalidades efectivas en el tratamiento del cancer. Desafortunadamente tienen un efecto mutagénico y/o carcinogénico (208). Por ejemplo los pacientes tratados de enfermedad de Hodgkin con quimioterapia combinada con radioterapia aparentemente presentan un cierto riesgo de desarrollar una leucemia aguda iatrogénica (209) y un linfoma no Hodgkin (210). Por eso el riesgo de provocar tumores secundarios en pacientes que tienen una enfermedad potencialmente curable es un problema que ha sido considerado por varios investigadores (211) (212) (213) (214).

En 1984 Milas publicó que el WR-2721 es capaz de proteger significativamente contra la inducción de tumores por las radiaciones ionizantes en roedores (215).

Milas demostró que el WR-2721 administrado por vía intraperitoneal en unas dosis de 400 mg/Kg, 30 minutos antes de la irradiación reducía significativamente la incidencia de tumores radioinducidos en el ratón. Grdina y cols. (216) encontraron que el WR-2721 era efectivo en la protección de focos preneoplásicos en el hepatocito en ratas recién nacidas a las que se había expuesto a unas dosis de radiación gamma (Co^{60}) que variaban desde 1.5 a 3.0 Gy (217).

Siguiendo a las observaciones iniciales de Milas en 1984 (215) en las que el WR-2721 protegía significativamente a los roedores de la inducción de tumores por la radiación, han aparecido una serie de comunicaciones en la literatura que describen las propiedades antimutagénicas (216) (218) (219), antitransformación (220) y anticarcinogénicas (217) del WR-2721 y de su correspondiente tiol libre, el WR-1065.

PROTECCION CONTRA LOS EFECTOS TARDIOS DE LA RADIACION.

El WR-2721 también resultó ser un potente radioprotector de los tejidos que tienen una respuesta tardía a las radiaciones. Otros estudios efectuados por Travis y cols. han demostrado que el WR-2721 también protege contra las lesiones radioinducidas en el pulmón (221), y el colon (222) con unos FRD de 1,6 y 1.5 respectivamente. De este modo, se observó que el WR-2721 protegía a los tejidos con respuesta tardía a las radiaciones de forma similar a como lo hacía en los tejidos de respuesta temprana. Estos hallazgos son de una

particular importancia para el potencial uso clínico de los agentes radioprotectores debido a que las complicaciones tardías de la irradiación limitan frecuentemente la dosis total de radiación que puede ser administrada para erradicar al tumor en gran parte de las localizaciones.

ENSAYOS CLINICOS.

Basados en estos estudios preclínicos, se realizaron ensayos en Fase I-II en la Universidad de Pennsylvania y en otros centros (9). Los estudios en fase I se llevaron a cabo con 250 pacientes con tumores avanzados que recibieron WR-2721 antes de ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, cisplatino o radioterapia.

Los resultados de este estudio sugirieron que el WR-2721 puede proteger contra alguna de la toxicidad provocada por el cisplatino en los tejidos normales [ototoxicidad (223), neuropatía periférica (224)], pero que no protege contra la eficacia antitumoral del cisplatino (9).

Asimismo sugieren que el WR-2721 protege de la toxicidad hematológica provocada por la ciclofosfamida (granulocitopenia y trombocitopenia) (225) (226).

También los resultados apoyaron los datos presentados por Yuhas y Culo (193) en el sentido de que el WR-2721 protege contra la toxicidad renal provocada por el cisplatino.

El Eastern Cooperative Oncology Group está efectuando actualmente un ensayo en fase II con WR-2721 y cisplatino en pacientes con melanoma metastásico y cánceres avanzados de cabeza y cuello.

El Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) (9) ha iniciado un ensayo en Fase II con WR-2721 administrado antes de tratamientos radioterápicos en pacientes con tumores pélvicos avanzados.

Una vez determinada la dosis máxima tolerada de WR-2721 (159), el siguiente paso previsto por el RTOG es la realización de un estudio administrando el compuesto en tratamientos radioterápicos de tumores de vejiga, recto, útero y ovario, comparando las alteraciones con las que se encuentran en los órganos pélvicos tras la administración de 50 Gy sin la adicción del radioprotector. Una vez conocido el FRD para los órganos pélvicos, el siguiente paso deberá ser la determinación de la efectividad terapéutica de esta dosis con radioprotector comparándola con la de 50 Gy sin radioprotector (9).

TOXICIDAD Y EFECTOS SECUNDARIOS.

Desde hace bastante tiempo, todas las observaciones efectuadas han demostrado que los compuestos radioprotectores más activos, que son los que contienen grupos sulfidrilo, y entre ellos el WR-2721 que es el más representativo, son tóxicos para todos los sistemas vivientes y particularmente para los mamíferos (227) (228). El margen entre la dosis activa y la tóxica es

estrecho o nulo, lo que provoca una limitación importante de la zona manejable terapéuticamente. Los efectos perjudiciales de los compuestos protectores ocurren en los niveles celular, tisular y general. Algunos de los efectos perjudiciales que provoca la administración de un agente radioprotector que contenga grupos sulfidrilo son de naturaleza secundaria y no están relacionados con la capacidad protectora del compuesto, y pueden reducirse mediante procedimientos adecuados. La toxicidad celular parece ser el factor responsable del poder protector, al menos en los mamíferos (229). Por eso los radioprotectores sulfidrílicos, administrados en dosis protectoras, modifican drásticamente la estructura de algunas organelas celulares (p.ej. núcleo, mitocondrias, retículo endoplásmico). La administración de radioprotectores sulfidrílicos antes de la exposición a las radiaciones disminuye los cambios inducidos por la radiación en esas estructuras. También se influye temporalmente, mediante una única administración de radioprotectores sulfidrílicos, en las funciones bioquímicas: Disminuye la síntesis del DNA y se prolonga el ciclo celular de las células con capacidad mitótica a nivel del intestino delgado, etc. (230) (231). La radioprotección ofrecida por los compuestos sulfidrílicos parece estar íntimamente relacionada con la importancia de esas alteraciones y parece ser, por lo tanto difícil de reducir marcadamente (230), como no sea mediante combinaciones con otros fármacos que permitan disminuir la dosis a administrar (232).

Desde hace varios años se están realizando estudios para reducir su toxicidad y potenciar sus efectos mediante la combinación con otros radioprotectores (233) (234).

Los efectos secundarios del WR-2721 que son dosis dependientes son : vómitos, disminución de la presión sanguínea sistólica, sensación de rubor, somnolencia, estornudos y, más raramente, reacciones alérgicas (235) (236). Además este compuesto provoca una hipocalcemia transitoria importante debido a que tiene una acción inhibidora de la secreción de la hormona paratiroidea y de la resorción ósea (14) (226) (235).

En los ensayos clínicos en fase I y II efectuados en la Universidad de Pennsylvania sobre 250 pacientes se pudo constatar que el WR-2721 fue generalmente bien tolerado con los efectos colaterales transitorios, que ya se han descrito más arriba y una de las conclusiones a las que se llegaron fué que el único efecto colateral del WR-2721 que era potencialmente limitante de la dosis a administrar fué la hipotensión (237) entendida como tal a la disminución de la presión sistólica sanguínea en aproximadamente 20 mm Hg, que tenía una duración aproximada de 20 minutos. Parece ser que la hipotensión se produjo con más frecuencia en pacientes con tumores de cabeza y cuello, esófago, cancer de pulmón (no de células pequeñas) y en los que tenían hipercalcemia.

1.3.3.1.3.3.-WR-1065.

El WR-1065 o [2-(3-aminopropilamino)-etanetiol] es el tiol libre del WR-2721 (238) y su estructura química es la siguiente:



Se cree que el WR-1065, el metabolito defosforilado del WR-2721, es el agente radioprotector activo, entre otras razones porque el WR-2721 es incapaz de proteger a varias líneas de cultivos celulares (205) (239) (240), mientras que el WR-1065 si protege a las células cultivadas (239) (240).

Una de las hipótesis que se han expuesto para explicar la distinta protección brindada por el WR-2721 a los distintos tejidos es atribuida a diferencias en la cantidad y distribución del WR-1065 en esos tejidos posiblemente relacionada con la distribución tisular y la cantidad catalítica de fosfatasa alcalina, la enzima de la membrana plasmática a la que se atribuye la responsabilidad catalizadora para la hidrólisis y la posterior incorporación del WR-2721 a las células (203).

Los resultados obtenidos en animales de experimentación sugieren que aporta una protección significativa contra los efectos mutagénicos provocados por varios agentes usados en la terapéutica antineoplásica, en particular contra la mutagénesis en la hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa que se induce en las células del animal de experimentación por la radiación con neutrones (alta LET), por la radiación gamma (baja LET), y también por la bleomicina, el cis-diaminodicloroplatino y la mostaza nitrogenada (241).

En 1986 Grdina y Nagy (242) demostraron que el WR-1065 era efectivo, si estaba presente durante la irradiación, en la protección contra la inducción de roturas simples en el DNA por la radiación con in FRD de 1.5. En 1987, Sigdestad y cols. (243), comunicaron que el WR-1065 protegía significativamente contra el daño al

DNA, presumiblemente contra la formación de roturas dobles en el DNA con un FRD de 1.8.

1.3.3.2.-ANTIOXIDANTES.

1.3.3.2.1.INTRODUCCION.

Los radicales libres mediadores del daño celular por oxidación, que se consideraron durante un largo período de tiempo como un fenómeno típico del desarrollo de los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes, intervienen en una gran variedad de situaciones patológicas como envejecimiento, inflamación, carcinogénesis, toxicidad de medicamentos, y de compuestos químicos, etc.. La clasificación de los antioxidantes, con algunos ejemplos, se expone en la FIGURA 10.

Los radicales hidroxilo y superóxido tienen gran importancia en las reacciones que conducen a la producción de las lesiones por oxidación en las biomoléculas críticas.

En el trabajo de Tamba et al. presentado en 1987 en Bethesda (244), en el que se evalúa el papel protector de los compuestos reductores, se presta una atención especial al radical tiilo RS^- que es el radical sulfúrico intermediario más prominente, resultado del proceso defensivo desarrollado por los tioles contra el ataque a los sistemas celulares por los radicales libres. Este radical reacciona con el oxígeno formando radicales peroxilo $RSOO^-$ que a su vez están implicados con los radicales superóxidos en la eliminación de los sulfidrilo mediante una corta reacción en cadena.

FIGURA 10. Clasificación de los Antioxidantes.

ANTIOXIDANTES.

1.-ENZIMAS ANTIOXIDANTES.

1.1.-Principales.

1.1.1.-Glutación Peroxidasa (GSHPx).

1.1.2.-Catalasa.

1.1.3.-Superóxido Dismutasa (SOD).

1.2.-Secundarias.

1.2.1.-Glutación Transferasa (GSHTx).

1.2.2.-Glutación Reductasa (GR).

1.2.3.-Glucosa 6-fosfato dehidrogenasa.

2.-METALES ANTIOXIDANTES.

(Miméticos de las Enzimas Antioxidantes).

2.1.-Compuestos de Cobre.

2.2.-Compuestos de Hierro.

2.3.-Compuestos de Selenio.

2.4.-Dietilditiocarbamato (DDC).

3.-VITAMINAS ANTIOXIDANTES.

3.1.-Vit. C.

3.2.-Vit. A (y su componente el B-caroteno).

3.3.-Vit. E (y su componente el A-tocoferol).

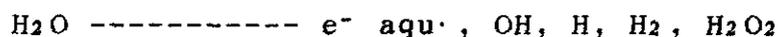
Además se han encontrado evidencias que indican que los radicales peróxilos de los tioles pueden inactivar enzimas como la lisozima y la tripsina. Otros estudios han demostrado que los radicales peróxilos del glutatión reaccionan con los antioxidantes naturales y artificiales como la vitamina C, NADH, clorpromacina, etc.. Estos hallazgos pueden ser indicativos del papel que juegan los antioxidantes biológicos en la limitación de la reacción peroxidativa en cadena y , como consecuencia, en la limitación de las lesiones biológicas por oxidación.

1.3.3.2.2.-ENZIMAS ANTIOXIDANTES.

Las enzimas antioxidantes forman parte de los sistemas endógenos de los que dispone la célula (o el organismo) que son capaces de eliminar y detoxificar a las "reactive oxygen species" (ROS) y a sus productos, originados todos ellos por la acción de las radiaciones ionizantes. Podemos clasificarlas en Principales y Secundarias. Las Principales son la glutatión peroxidasa (GSHPx), que actúa sobre el H_2O_2 y los peróxidos orgánicos; la catalasa, que actúa sobre el H_2O_2 ; y la superóxido dismutasa (SOD), que sustrae O_2 al H_2O_2 . Pueden considerarse como enzimas antioxidantes Secundarias, a otras enzimas que intervienen en las reacciones de detoxificación ya sea disminuyendo los niveles de peróxidos , como la glutatión transferasa (GSHTx), o manteniendo el suministro de intermediarios metabólicos que se precisan para la detoxificación, como la glutatión reductasa (GR) y la glucosa 6-fosfato dehidrogenasa (G6PD) . Se han publicado numerosos trabajos

sobre el papel desempeñado por estas enzimas como, por ejemplo, el publicado en 1984 por Petkau y Chuaqui (245) en el que se revisaba el papel de la superóxido dismutasa en la radioprotección. En la FIGURA 11 (246) se muestran las relaciones existentes entre los ROS que se forman por la acción de las radiaciones ionizantes, con los peróxidos y las enzimas antioxidantes primarias y secundarias.

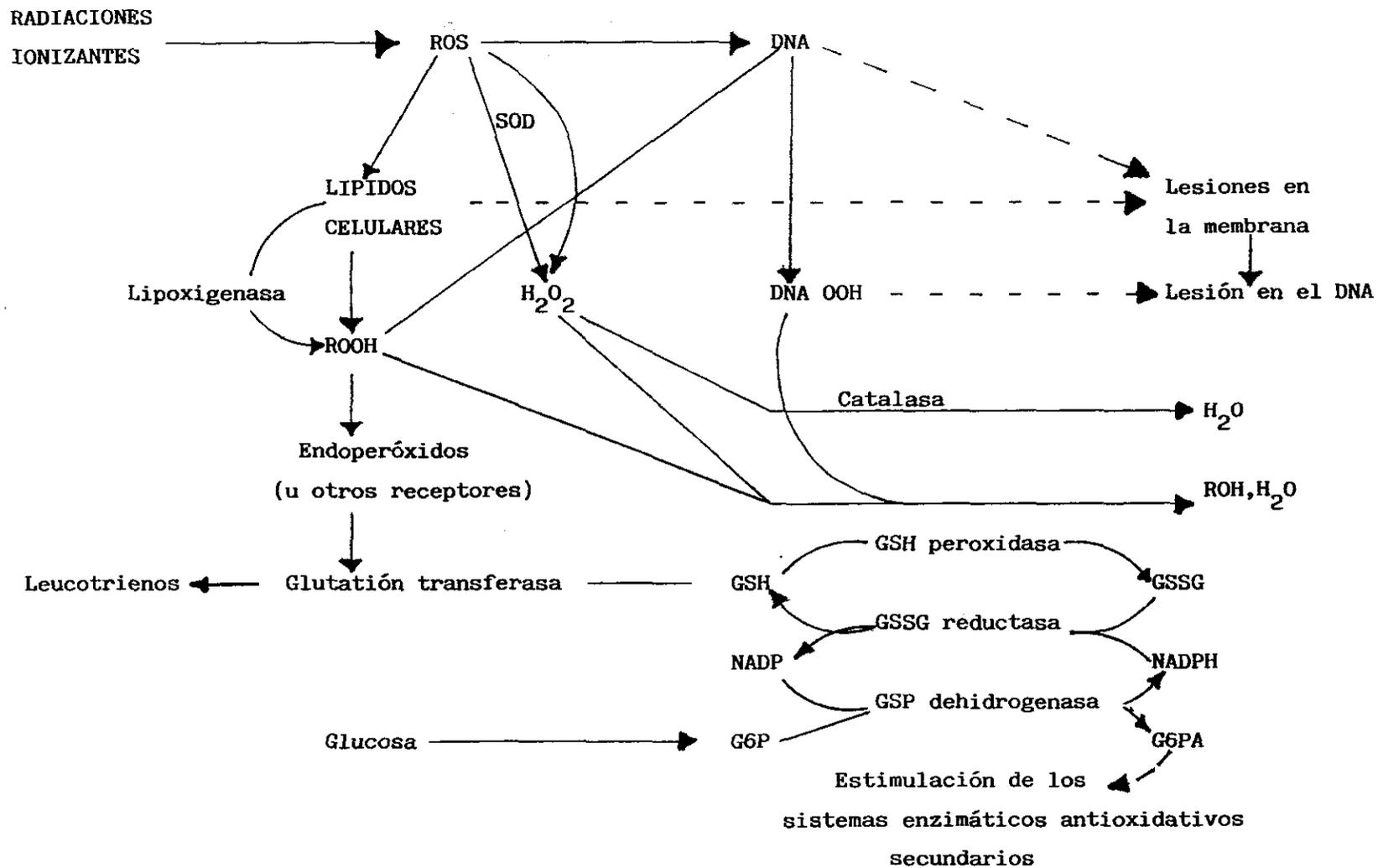
La formación de radicales libres y de ROS por las radiaciones ionizantes se produce a través de la radiolisis del agua. Los productos que se forman incluyen al radical hidroxilo (OH^\cdot), electrones hidratados ($e^- \text{ aqu}^\cdot$), protones (H^+), y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (19) (247).



Algunos de estos reaccionan con el O_2 contenido en el agua intracelular formando radicales O_2^\cdot (superóxido) y HOO^\cdot (hidroperoxilo).

Se cree que el efecto más perjudicial a nivel celular, de entre todos los que producen estos radicales, es la acción del radical hidroxilo (248) sobre las biomoléculas críticas (o biomoléculas diana) como el DNA, las enzimas y los constituyentes de las membranas celulares (TH), formando complejos radicales libres-biomoléculas diana (T) :



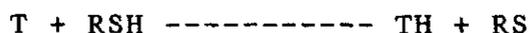


75

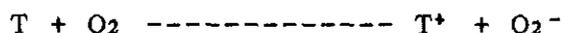
FIGURA 11 : Relaciones existentes entre los ROS que se forman por acción de las Radiaciones Ionizantes y las enzimas antioxidantes primarias y secundarias.

Tomado de: KUMAR, K. S., VAISHNAV, Y.N., WESS, J.F.: Radioprotection by antioxidant enzymes and enzyme mimetics. Pharmac. Ther.. Pergamon Press, Oxford. 1988. 39: 301-309.

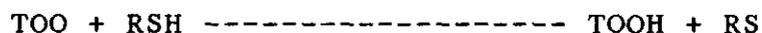
Los radioprotectores endógenos [glutati6n (GSH) y otros antioxidantes fisiol6gicos] o ex6genos (aminotioles o sulfidrilos) pueden proteger contra la formaci6n de T o reparar los T formados en la anterior reacci6n, por medio de la donaci6n de hidr6geno :



El ox6geno tiene una acci6n competitiva con esta reacci6n mediante la fijaci6n del da1o, o mediante la formaci6n de O_2^- :



Los productos diana pueden reaccionar posteriormente con los ROS o con los tioles para formar hidroper6xidos que pueden ser reparados m1s tarde:



El super6xido es convertido, espontaneamente o mediante una reacci6n catalizada por la SOD, a H_2O_2 que es detoxificado por la catalasa o por la GSHPx ,

dependiendo de la concentración de H_2O_2 y de la localización de esta formación. Los ROS reaccionan con los lípidos de las membranas celulares o con el DNA y forman los correspondientes hidroperóxidos (ROOH, DNAOOH). Los hidroperóxidos lipídicos también son intermediarios en la síntesis de los leucotrienos, que a su vez, tienen efectos inmunológicos. La GSHPx detoxifica a los hidroperóxidos y los convierte en compuestos hidroxilados. Un aumento en el porcentaje de detoxificación de los peróxidos por el sistema de la GSHPx puede estimular la vía de los sistemas enzimáticos antioxidantes secundarios.

La regulación de éstos sistemas enzimáticos antioxidantes que tienen la capacidad específica de catalizar la detoxificación de los ROS o de sus productos, podría favorecer la radioprotección. La GSHPx y la GSHTx emplean GSH reducido como uno de sus sustratos necesarios para su acción (249). Como demostraron Lawrence y Bork en 1976 (250), existen dos tipos de GSHPx, una que es selenio-dependiente (SeGSHPx) y que emplea el H_2O_2 , a los lípidos y a otros hidroperóxidos como sustratos, y la GSHPx selenio-independiente que únicamente emplea a los hidroperóxidos como sustratos. Se ha encontrado a la GSHPx en el citoplasma, las mitocondrias y las membranas (251), lo que indicaría su capacidad para eliminar los peróxidos en esas localizaciones vitales celulares. Asimismo también existen dos tipos de SOD según su localización; la citoplasmática y la mitocondrial. La SOD citoplasmática contiene cobre y zinc (CuZnSOD), y la SOD mitocondrial contiene manganeso (MnSOD). En la CuZnSOD, el zinc tiene un papel estructural pero no juega al parecer ningún papel catalítico (252).

EFFECTOS DE LA RADIACION EN LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES.

Hassan y Fridovich, en 1976 (253), indujeron la producción de SOD en la E. coli como respuesta a un stress oxidativo . En 1982, Krizala y cols. (254) comunicaron que se producía un incremento de la SOD en la médula ósea de la rata que oscilaba entre el 700 y el 800 %, transcurridas 72 horas después de que fueran sometidas a ICT. Esto puede ser un mecanismo primario de defensa contra la producción radioinducida de radicales libres. Schweitzer y cols. (255), encontraron que la cantidad de SOD en los eritrocitos de trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes era solo del 11-27 % , a las 5 horas después de la extracción de la sangre, frente al 63 % en el grupo control .

Podría ser que la exposición continuada a bajas dosis de radiación provocara una inestabilidad de la SOD. Sin embargo, Petkau (256) publicó, en 1987, un estudio que realizó con trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes y que dió como resultado que éstos tenían unos niveles más elevados de SOD en los leucocitos de sangre periférica.

Kumar, Vaishnav y Weiss (246) demostraron, en 1988, que se produce un incremento del 40 % en el contenido de SOD en la médula ósea del ratón sometido a ICT con una dosis letal (10 Gy). También aumentó el contenido de GSHPx y de catalasa pero esta elevación no fué estadísticamente significativa. Asimismo se han comunicado, por diversos autores, incrementos en la actividad de la G6PD en tejidos sanos (257) y en tejidos tumorales (258) después de su exposición a radiaciones ionizantes. Este aumento de actividad podría tener una acción potenciadora sobre la capacidad endógena de

eliminar a los peróxidos radioinducidos.

ENZIMAS ANTIOXIDANTES Y RADIOPROTECCION.

1.- EXPERIMENTOS IN VITRO.

Michelson y Bockingham (259), comunicaron en 1974 que la adición de SOD a una cepa de mioblastos previamente a su irradiación, previno la aparición en éstos de cambios morfológicos radioinducidos. En los experimentos de Petkau y Chelack (260) (261) la SOD protegió a las células madre de los macrófagos de la médula ósea del ratón. De todas formas, se han publicado estudios contradictorios en el sentido de que la SOD ejerce una acción protectora (262) o que, por el contrario, favorece la transformación celular radioinducida (263).

Kumar, Vaishnav y Weiss (264), consideraron la formación de pentanos como un índice de la peroxidación lipídica de las membranas del eritrocito provocada por las radiaciones ionizantes y observaron que la adición de SOD o de catalasa a las membranas, después de la irradiación, producía una reducción significativa de la formación de pentanos.

2.- SISTEMAS IN VIVO.

El mejor resultado obtenido con la SOD como radioprotector fué comunicado por Petkau (256), quien obtuvo una mejor radioprotección (FRD = 1.56) cuando la administración de la SOD al ratón fue por vía i.v., ya fuera antes o después de la irradiación.

La estabilidad de la GSHPx frente a los peróxidos y su presencia en abundantes localizaciones intracelulares podría sugerir que este enzima tiene un papel muy importante en la detoxificación celular de los peróxidos radioinducidos. Kumar y Weiss (264), demostraron que el misonidazol, un radiosensibilizador, inhibe la GSHPx hepática poco tiempo después de su administración intraperitoneal. Jacobs y cols. (265) objetivaron que los tratamientos que incrementan a la GSHPx, como por ejemplo la administración de selenio, tienen un efecto radioprotector intermedio. Todos estos estudios indican indirectamente que la GSHPx tiene un papel en la radioprotección.

Gray y Stull en 1983 (266), obtuvieron una ligera radioprotección (FRD = 1.2) al administrar polietileno glicol-catalasa a la hembra del ratón B6CBF1 antes de someterla a ICT. La catalasa puede también jugar un papel en la inhibición de la mutagénesis radioinducida por medio del selenio ya que se ha visto que su actividad está incrementada en aquellas células tratadas con selenio (267). Kumar, Vaishnav y Weiss (246), observaron un incremento en la actividad de la catalasa, en la médula ósea del ratón, 24 horas después de la administración de selenio o 1 hora después de la irradiación.

1.3.3.2.3.MIMETICOS DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES (METALES ANTIOXIDANTES).

Se sabe que algunos compuestos mimetizan a las enzimas antioxidantes (268). Se trata de complejos de metales de transición o de sus sales.

Sorenson (269) obtuvo una mayor supervivencia (48%) en ratones tratados con el mimético de la SOD, el 2(3,5-diisopropilsalicilato) de cobre, (CuDIPS) 24 hr. antes de ser sometidos a ICT con 10 Gy, comparado con los ratones que fueron tratados con placebo. Sin embargo, Steel y cols. (270) publicaron los resultados de un trabajo en que el CuDIPS no proporcionó ninguna protección adicional que la que se consiguió con la administración de una concentración equivalente de clorato de cobre (CuCl_2) administrado a ratas machos y hembras 24 horas antes de la ICT. Otro mimético de la SOD, un complejo de cobre y 3-mercapto-2-hidroxi-propil-eter de dextran ha sido descrito como suministrador de efecto radioprotector (271).

Vamos a mencionar ahora a otros dos compuestos miméticos de la SOD, el tetrakis-(4-N-metilpiridil)porfina-de hierro (III) (FeIII TMpyP) y el tetrafenilporfina-sulfonato de hierro(III) (Fe III TPPS), que son quelatos del hierro. A pesar de que su potencial como radioprotectores se desconoce, es interesante el hecho de que el FeIIITPPS no sea destruido por un sistema generador de superóxido y que, además se una a la albúmina del suero y la proteja de su destrucción por el H_2O_2 . Esta propiedad del FeIIITPPS , además de su hidrofiliidad, le convierten en una excelente herramienta para la actuación con el CuDIPS en los lugares hidrofobos como son el plasma y las membranas nucleares. Se espera que la combinación de los dos miméticos pueda proporcionar eliminación de los radicales libres en la mayor parte de las localizaciones celulares. El FeIIITMpyP es destruido por el superóxido formando otro producto de mucha menor actividad mimética de la SOD. Además, Oberley y cols. demostraron en 1984 (272), que estos dos compuestos

miméticos presentan una actividad mayor que la SOD citoplásmica (CuZn SOD).

Los compuestos que pueden mimetizar a la GSHPx pueden tener acción radioprotectora . Entre ellos están el DDC (Diethylthiocarbamate) y los compuestos sintéticos de Se, como la DL-selenocistina, selenocistinamina, selenometionina, y el 2-phenyl-1,2-benzoisoselenazol-3(2H). El papel desempeñado por estos compuestos merece ser objeto de estudios posteriores.

Evans en 1985 (273), informó que el DDC tenía una acción radiosensibilizante de los tejidos tumorales y radioprotectora de los tejidos normales . La reacción de oxidación-reducción del DDC unido con el H₂O₂ y el GSH, que tiene lugar de forma cíclica, es similar a la actividad de la GSHPx . El DDC es el compuesto sulfidrílico que tiene mayor actividad mimética de la GSHPx (274).

Si tenemos en cuenta que la actividad mimética de la GSHPx ejercida por el DDC depende de la concentración de GSH (32), el papel del DDC en la radioprotección de los tejidos normales y en la radiosensibilización de los tejidos tumorales en un mismo animal vendrá determinado tanto por el contenido de GSH de los tejidos como por la capacidad de éstos para regenerar el GSH a partir del glutatión oxidado (GSSG). Se sabe que el DDC es un inhibidor de la CuZnSOD y no de la MnSOD (275) . Si tenemos en cuenta que los tumores tienen niveles bajos de MnSOD (276), el tratamiento con DDC para inhibir a la CuZnSOD puede sensibilizar a los tumores frente a las radiaciones ionizantes.

Los compuestos miméticos de las enzimas antioxidantes alcanzan con facilidad diversas localizaciones en las que se producen lesiones por radiación a las que las enzimas antioxidantes, de gran peso molecular, no pueden acceder. Además, los miméticos de las enzimas antioxidantes no son atacados por las enzimas proteolíticas, las cuales son capaces de hidrolizar e inactivar a los suplementos de enzimas antioxidantes (246).

Como hemos visto anteriormente, el WR-2721 es en la actualidad el compuesto que proporciona una mayor protección frente a la mortalidad aguda provocada por las radiaciones ionizantes en los roedores, sin embargo su empleo en humanos está condicionado por su toxicidad (277). Weiss y cols. (278), comunicaron en 1987 que la administración intraperitoneal de Se, 24 horas antes de la administración del WR-2721, aumentaba la radioprotección de este último y disminuía su toxicidad aguda.

1.3.3.2.4.-VITAMINAS ANTIOXIDANTES.

Existe gran número de estudios sobre la acción radioprotectora de algunas vitaminas y es sabido que su administración en pacientes en tratamiento radioterápico disminuye algunos de los efectos secundarios a la radioterapia. Podemos poner como ejemplo la reducción de las reacciones en la mucosa oral de los pacientes en tratamiento radioterápico de tumores de cabeza y cuello a los que se les administra Vit. C. (279).

Además, se cree que un posible mecanismo del inicio de los cambios inducidos por la radiación en la membrana celular es la destrucción radioinducida de los antioxidantes, entre los cuales la Vit. E es uno de los más eficientes (280) (281), lo que implica que también tiene un papel importante en la radioprotección.

El alfa-tocoferol, antioxidante liposoluble, protege con efectividad contra la peroxidación lipídica producida por la unión de O_2 radiolítico/xantina oxidasa (280). Lo anterior puede sugerirnos que el inicio de la peroxidación tiene lugar en un ambiente hidrófobo. A pesar de que se sabe que el alfa-tocoferol reacciona directamente con el O_2 (282) (283), no es probable que este sea el único mecanismo de protección debido a que el O_2 se produce en cantidades que exceden en mucho a la concentración de alfa-tocoferol.

Como ya hemos visto anteriormente, los eliminadores de O_2 como la superóxido dismutasa inhiben la peroxidación producida por la conjugación del O_2 radiolítico/xantinooxidasa. Sin embargo, la administración de suplementos adecuados de alfa-tocoferol también proporciona protección y, en términos generales, puede que éste sea un protector más efectivo por que tiene una mayor accesibilidad a los blancos críticos de la membrana que la que tienen las proteínas como la superóxido dismutasa (280).

Raleigh y Shun demostraron, en 1983 (284), que el alfa-tocoferol no solo es efectivo contra la peroxidación lipídica iniciada por el O_2 sino que también es efectivo contra los radicales secundarios generados por los eliminadores de radicales OH como el dimetil sulfóxido.

En cuanto a brindar protección a la membrana frente al stress oxidativo, el alfa-tocoferol puede que sea, en efecto, el mas efectivo, debido a su localización en la parte más radiosensible de la membrana y siendo prolongada su acción antioxidante por los antioxidantes hidrosolubles (281).

Varios investigadores han observado que la manipulación de los niveles de la vit. E in vitro (285) (286) e in vivo (287) (288) (289) ha demostrado tener efectos significativos en las lesiones radioinducidas en la membrana. Sin embargo, el empleo de tocoferoles como radioprotectores efectivos in vivo, tendrá que esperar a que poseamos una mayor comprensión de su farmacología y, posiblemente, al desarrollo de análogos más efectivos (281) (290).

Malick y cols. demostraron que la administración de tocoferol intraperitonealmente aumentaba la supervivencia del ratón sometido a ICT (291). Roy y cols. (292) observaron, asimismo, un incremento en la supervivencia de las células madre hematopoyéticas. El tocoferol fue efectivo administrado inmediatamente después de la irradiación (pero no lo fue cuando se administró 5 horas mas tarde de la misma) lo que sugirió que producía una potenciación en los procesos de reparación y/o en la eliminación antioxidativa de los radicales producidos.

La ciclofosfamida es un compuesto sintético ampliamente usado en quimioterapia antitumoral y en trasplantes de órganos como agente inmunosupresor para prevenir el rechazo de los mismos y en el tratamiento de algunas entidades nosológicas que tienen severos aspectos inmunológicos e inflamatorios (ej. artritis reumatoide).

Para que se forme el compuesto citotóxico se requiere su activación por los enzimas oxidativos hepáticos. Además del metabolito antitumoral, se produce acroleína, un agente tóxico e inductor de tumores.

Strafford y cols., en 1980 (293) y más tarde Weinzweig y cols., en 1987 (294), demostraron que la Vit. A y el Beta caroteno reducen marcadamente la toxicidad de la ciclofosfamida sin reducir las acciones antitumorales del compuesto. Mediante su administración se redujeron marcadamente la linfocitopenia, la disminución del crecimiento, y el retraso en la cicatrización de las heridas debidos a la ciclofosfamida.

Seifter y cols. (295), han investigado la influencia de la administración de Vit. A y Beta caroteno en animales (ratones de la cepa CBA) cuyo organismo fue sometido total o parcialmente a la acción de las radiaciones ionizantes (gamma y X). En uno de los experimentos que fueron realizados por los autores, la administración de Vit. A a dichos animales, inmediatamente antes de su ICT con 800 cGy, produjo un incremento significativo de la DL 50/30 y además disminuyó toda una serie de alteraciones (hipertrofia de las glándulas suprarrenales, involución tímica, linfocitopenia y pérdida de peso), que son todas ellas signos de toxicidad por radiaciones ionizantes (296).

La Vit. A y el beta caroteno (que es una Provitamina A constituida por 18 eslabones de hidrocarburos y un anillo iónico en cada extremo, y que pasa a Vit. A en el hígado por la acción de un fermento hepático, la carotinasasa) son agentes radioprotectores con unas grandes posibilidades de aplicación. La ICT de ratones de la cepa CBA y de ratas Sprague-Davis produce

ulceraciones y hemorragias gástricas e intestinales (297). La administración suplementaria de Vit. A y de Beta-caroteno reduce la ulceración y el sangrado. Selye y Szabo (298) descubrieron ,en 1973, que la cisteamina produce úlceras duodenales y de stress en ratas y ratones. En el experimento realizado por Mahmood y cols. en 1986 (299), la administración suplementaria de Vit. A inhibió el desarrollo de dichas úlceras. Ya que la cisteamina es el prototipo de los agentes radioprotectores aminoetanetiólicos, Seifter y Mendecki (300) sugieren que la Vit. A inhibe no solo las ulceraciones radioinducidas sino también las ulceraciones y las hemorragias debidas a los agentes radioprotectores.

Un aspecto importante de los efectos radioprotectores de la Vit. A y del Beta-caroteno es su empleo potencial como terapéutica de soporte en pacientes sometidos a tratamiento con radiaciones ionizantes o con agentes radiomiméticos (ciclofosfamida). Debido a que en los tratamientos a los pacientes afectos de enfermedades neoplásicas y algunas no neoplásicas se ha observado la inducción yatrogénica de tumores (301), Holtzman, Kanofshy, Friedenthal, Davis y Weinzweig (300) sugieren que la Vit. A , además de ser util en los tratamientos radioterápicos, puede serlo también en la inhibición de la carcinogénesis inducida por las radiaciones ionizantes y por los compuestos radiomiméticos.

La Vit. A y el Beta caroteno son estimuladores importantes de las reacciones inmunológicas, especialmente de aquellas que se dirigen contra los tumores (302). En efecto, Tannock y cols. (303) han sugerido que la Vit. A facilita la regresión tumoral despues de la irradiación tumoral local mediante una potenciación de esas reacciones inmunitarias .

1.3.3.3.-MODIFICADORES DE LA RESPUESTA
BIOLOGICA.

1.3.3.3.1.-INTRODUCCION.

Se ha demostrado que algunas sustancias, cuando se administran antes de la irradiación, tienen un efecto radioprotector, especialmente en los límites de dosis de radiación que causan el síndrome hematopoyético. De entre ellas las mejor conocidas son las endotoxinas (304) (305), pero también se ha observado una cierta radioprotección con extractos del Bacillus Calmette Guerin (BCG) y con el Corynebacterium parvum (305). Todos estos agentes son potentes estimulantes inespecíficos hematopoyéticos e inmunológicos. Los efectos radioprotectores óptimos se han observado generalmente cuando han sido administrados de 20 a 24 horas antes de la irradiación. Se ha sugerido que la acción de estas sustancias se lleva a cabo por medio de un incremento de la cantidad de células madres, sincronizando a las células madres hematopoyéticas en las fases menos sensibles del ciclo celular y/o acelerando la repoblación inmunitaria y hematopoyética a partir de las células madres supervivientes a la irradiación. Ironicamente, estas sustancias que son radioprotectoras específicamente en los niveles de dosis causantes del síndrome hematopoyético, nunca fueron clasificadas como sustancias radioprotectoras (306). El interés primitivo en estas sustancias, conocidas como inmunomoduladores o modificadores de la respuesta biológica (BRMs), fué debido a su potencial aplicación terapéutica en la estimulación del sistema inmunitario para combatir al cancer. Desafortunadamente, estos BRMs también produjeron efectos indeseables lo que

imposibilitó su empleo en humanos (307) (308) (309). Durante las pasadas décadas , y debido más a la terapéutica anticancerosa que a razones de radioproteccion, se ha dedicado una gran cantidad de tiempo, energías y dinero para descubrir y/o desarrollar nuevos BMRs que fueran menos tóxicos pero que mantuvieran su potente actividad inmunomoduladora.

Su clasificación, con algunos ejemplos, se expone en la FIGURA 12.

1.3.3.3.2.-POLISACARIDOS.

1) ENDOTOXINAS.

Las endotoxinas son complejos de lipopolisacaridos, tóxicos y antigénicos, asociados con las paredes celulares de las bacterias gram-negativas (310). Sus interesantes efectos farmacológicos y su naturaleza química han servido como foco de interes multidisciplinario para inmunólogos, farmacólogos, bioquímicos, médicos y radiobiólogos durante bastantes años. Algunas de estas areas han sido revisadas recientemente (311) y se ha visto que las endotoxinas tienen efecto sobre la recuperación del compartimento de las células madre, que es lo que determina la radiosensibilidad, por ejemplo, en el ratón (312).

Al inicio de la década de los 50 se demostró claramente que dosis semiletales de radiación producían un daño severo a los sistemas hematopoyético, reticuloendotelial e inmunitario y se producía un aumento

**FIGURA 12. Clasificación de los Modificadores
de la Respuesta Biológica.**

MODIFICADORES DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA.

1.-POLISACARIDOS.

1.1.-Endotoxinas.

1.2.-Otros Polisacáridos.

1.2.1.-Glucan.

1.2.1.1.-Glucan P.

1.2.1.2.-Glucan F.

1.2.1.-GLP/BO4.

1.2.2.-GLP/BO5.

1.2.3.-MN2.

1.2.4.-MNR.

1.2.5.-Picibanil (OK432).

2.-CITOKINAS.

2.1.-Linfokinas.

2.2.-Monokinas.

3.-PROSTAGLANDINAS.

3.1.-PGE1.

3.2.-PGE2.

en la susceptibilidad a las infecciones. La causa próxima de la muerte en el ratón irradiado se asoció con las septicemias con implicación de la flora microbiana endógena (313) (314) (315). Por entonces ya eran bien conocidos los efectos estimulantes de las endotoxinas sobre el sistema hematopoyético, y el camino lógico debía ser intentar compensar la supresión hematopoyética mediante la administración de endotoxina. Esto fué lo que llevó a Mefferd y cols. (305) a investigar la posibilidad de estimular la síntesis del factor humoral producido por el bazo que se relacionó con la recuperación hematopoyética. La administración de cinco dosis diarias produjo un aumento significativo de la supervivencia media de ratón irradiado, pero no quedó claro si aumentó la supervivencia a los 30 días.

El trabajo de Pillemer y cols. (316) sobre el sistema de la properdina y el trabajo de Rowley (317) sobre resistencia inespecífica a las infecciones produjeron un gran estímulo para el estudio de la protección, mediante endotoxinas, de animales irradiados. Pillemer y cols. (316) estudiaron la activación del sistema de la properdina mediante endotoxinas, zimosan, glucan, y otras sustancias. Las endotoxinas y el zimosan activaron el sistema de la properdina y elevaron la resistencia a las infecciones. En los años siguientes se realizaron extensos estudios sobre resistencia inespecífica a las infecciones (318). Roos (319) informó que el zimosan elevaba la supervivencia del ratón irradiado y relacionó su efectividad con la properdina y con el incremento de resistencia a las infecciones endógenas. Como era de esperár, en este contexto de la activación del sistema de la properdina y de la resistencia inespecífica, se publicaron poco más tarde trabajos sobre radioprotección con endotoxinas como los

elaborados por Smith y cols. (320), Ainsworth (321) y Ainsworth y Hatch (322).

Mientras que Smith y cols. (320) indicaban que la base para sus estudios estaba en los trabajos de Mefferd y precursores sobre el zimosan, la resistencia inespecifica y la radioprotección, el trabajo realizado por Ainsworth (321) y uno posterior similar de Zweifach y cols. (323) se centraron en la evaluación del efecto de la radiación en la inducción de tolerancia a la endotoxina bacteriana. Durante los años 50, otros trabajos dieron como resultado la incapacidad de las endotoxinas y el zimosan para la protección de animales irradiados, pero este fallo se produjo probablemente como consecuencia del empleo de distinta dosificación y otros factores microbianos como por ejemplo la presencia de *Pseudomonas Aeruginosa* en los animales de experimentación (324) (325) (326).

No obstante, los trabajos más exhaustivos que se realizaron durante la década de los años cincuenta sobre el tema de la protección con endotoxinas y sus mecanismos potenciales fueron realizados por W.W.Smith y colaboradores (327) (328) (329) (330).

Estos evaluaron el grado de protección conseguido con endotoxinas en el ratón irradiado empleando 10 parámetros como, por ejemplo, dosis de radiación administrada, tiempo de la administración de la inyección de endotoxinas respecto de la irradiación, número de inyecciones administradas, etc.. También demostraron que se conseguía radioprotección en la rata y el hamster. Asimismo efectuaron estudios exhaustivos sobre resistencia a las infecciones experimentales y sobre la recuperación de la hematopoyesis en ratones tratados con endotoxinas.

Como consecuencia de todos estos estudios, Smith y cols. (330) concluyeron que, aunque las endotoxinas tenían un efecto significativo en la resistencia a las infecciones bacterianas, el mecanismo de la radioprotección conseguida con su empleo era atribuible a la aceleración de la recuperación de la hematopoyesis. Este concepto de la aceleración de la recuperación hematopoyética inducida por endotoxinas dominó este campo durante algunos años, pero estudios efectuados posteriormente, y que se describen más adelante, originaron controversias en lo que a esa interpretación se refiere.

Forssberg y cols. (331) confirmaron la efectividad del zimosan y demostraron asimismo los efectos protectores de un compuesto sintético, el licopene. Prestaron atención a la naturaleza coloidal de ambas sustancias, a la activación del sistema de la properdina, las similitudes de tiempo en el efecto radioprotector y el aumento de la resistencia a la infección, que comunicó Landy (332), y plantearon la posibilidad de que el licopene acelere la recuperación de la hemopoyesis mediante estimulación de la síntesis del hemo.

Blondal (333) estudió los efectos de la administración de endotoxina, de la administración de dextran, y de la combinación de los dos compuestos (inyectados separadamente) cuando se administran 24 h. antes o 24 h. después de la irradiación. El dextran solo no produjo ningún efecto, el efecto de la endotoxina sola fue mínimo, pero la combinación produjo un 55% de supervivencia administrada 24 h. antes de la irradiación con una dosis, con la que la supervivencia de los animales no tratados fue del 2.5%. Si la combinación se

administraba 24 h. después de la irradiación la supervivencia fue del 30% . Blondal (333) encontró interesante el hecho de que si se mezclaba dextran y endotoxina in vitro y se inyectaba la combinación 24 h. antes o 24 h. después de la irradiación el efecto radioprotector se reducía marcadamente o desaparecía.

Como se ha visto anteriormente, han sido demostrados los efectos radioprotectores de las endotoxinas en varias especies. A pesar de ello, las comparaciones cuantitativas interespecies son muy difíciles debido a que solo se han elaborado curvas completas dosis-respuesta para el ratón, el perro y la oveja, lo que hace que solo puedan efectuarse comparaciones cuantitativas entre los valores de LD50/30 de los animales protegidos y los animales control de cada una de estas especies (334) (335) (336) (337). La LD50/30 para el ratón se incrementa con valores que oscilan entre un 10-30% cuando se administran las endotoxinas 24 h. antes de la irradiación. En el perro y la oveja, el incremento en la LD50 es al menos del 30% e incluso un poco mayor (338). Smith et al.(327) informaron que la radioprotección en ratas y hamsters era menor que la observada en ratones, y la pobre protección en la rata se confirmó en estudios posteriores de Duplisceva y cols. (339), quienes encontraron un efecto radioprotector muy pequeño en el conejo, posiblemente insignificante en terminos de supervivencia a los 30 días, pero significativo en cuanto a la supervivencia media.

Se conoce desde hace tiempo la activación del SRE (sistema reticuloendotelial) mediante la administración de endotoxinas y otros varios componentes bacterianos (340) (341) (342) (343) (344). La poca solubilidad de algunas formas de endotoxinas extraídas,

sugirió que estas suspensiones coloidales, igual que otros coloides en suspensión, estimularían al SRE, y posiblemente al sistema inmunitario. Muchas sustancias microbianas son inmunomoduladores en el amplio sentido de la palabra . Pero la cuestión básica es si la activación única del SRE puede incrementar la supervivencia de los animales irradiados. Cronkite y Brecher (345) encontraron un aumento en la recuperación de los granulocitos y especularon sobre la estimulación del SRE en perros irradiados a los cuales se les produjo un absceso después de la irradiación mediante una mezcla esteril de pirógenos microbianos. Se observó un incremento en la supervivencia de los perros tratados. Smith y otros (346) informaron que al provocar un absceso con varios materiales inorganicos, incluyendo vidrio molido, se producía una supervivencia mayor en el ratón irradiado mediante una reducción de la incidencia de infecciones bacterianas, presumiblemente como resultado de la activación del SRE.

2) OTROS POLISACARIDOS.

El Glucan es un beta-1,3-poliglucósido aislado a partir de la pared interna de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (347).

Es un potente estimulador del SRE y asimismo un potente modulador de la inmunidad celular y humoral (348) (349). También aumenta la resistencia inespecífica a la infección e incrementa la producción de macrófagos [que han resultado ser unas de las células más radioresistentes entre todas las hematopoyéticas e inmunitarias (350)] y granulocitos. Además los macrófagos juegan un papel principal en la defensa contra

las invasiones microbianas; sintetizan y liberan citokinas capaces de estimular la diferenciación y proliferación hemopoyética (351) (352). Los anteriores son unos de los datos que hacen sospechar que los efectos iniciales del glucan en la elevación de la supervivencia puedan estar mediados por macrófagos (353).

Hace ya tiempo que se conoce el hecho que el glucan es un potente activador de los macrófagos (342) (354) (355) y recientemente se han comunicado dos datos que van a favor de que los efectos del glucan estan mediados por receptores. Uno es que, tras su administración inyectada, el glucan parece ser incorporado específicamente por los macrófagos (356) y el otro el hecho de la demostración de la existencia de receptores específicos para el glucan en los monocitos y los macrófagos (357) (358).

Se ha demostrado además que, tanto la respuesta inmunitaria primaria como la secundaria, se potencian tras la administración de glucan (348) (354) (359). Se sospecha que estos efectos tardíos son el resultado de una cadena de reacciones favorecidas por las citokinas que se inician después de la activación de los macrófagos. Además de estos efectos inmunológicos, también se ha demostrado que el glucan potencia la hematopoyesis a nivel de las células madre pluripotenciales y de las células madre de cada serie (360) (361).

Además de poseer gran parte de los efectos inmunomoduladores de la endotoxinas, el glucan aumentó la supervivencia del ratón irradiado cuando se administraba 24 h. antes o 24 horas después de la irradiación (362). Patchen y cols. (343) (344) (363) demostraron asimismo

los efectos radioprotectores del glucan si era administrado 24 h. antes de la irradiación, y llevaron a cabo una importante serie de experimentos estudiando los diversos grados de estimulación del SRE y hematopoyético producidos por distintas formas de este compuesto. Estos estudios representan una importante contribución respecto a los posibles mecanismos de acción de los nuevos productos inmunomoduladores.

Asimismo, en el ratón, el glucan puede estimular la proliferación de las células madres pluripotenciales hematopoyéticas (colony-forming units o CFU-s), de las colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CFC), y de las células formadoras de colonias mieloides y eritroides (360) (361) (362) (364) (365) (366) (367) (368) (369). En base a estas propiedades, varios investigadores han dedicado sus trabajos a dilucidar cuales son los polisacáridos capaces de brindar protección contra la letalidad aguda y las lesiones de la médula osea que se producen después de la exposición corporal total del ratón a las radiaciones ionizantes (360) (362). En estos experimentos, la administración de polisacáridos iv. o ip. desde 24 h. a 1 h. antes de la irradiación, dió como resultado una protección contra la mortalidad aguda, además de una potenciación de la recuperación de las células de la médula osea y una protección de las células nucleadas esplénicas, además de una conservación del potencial clonogénico de los distintos tipos de células madres de la médula osea (GM-CFC, CFU-e, etc.) (360) (362).

Desde 1.986 se estan buscando agentes activos con una toxicidad reducida como el Glucan A (343) (370).

Maisin y cols. (371) (372) han informado recientemente sobre 3 polisacáridos extraídos de la levadura *S. cerevisiae* (GLP/B04, GLP/B05 y MN2) y uno extraído del *Rhodotorula rubra* (MNR) que tienen un mayor efecto radioprotector que las endotoxinas. En sus trabajos se estudió la acción protectora contra la mortalidad a los 30 días y las lesiones de médula osea tras exponer a las radiaciones ionizantes a ratones a los cuales se les había administrado previamente estos polisacáridos.

Los cuatro polisacáridos tuvieron una significativa acción radioprotectora, con un FRD cercano a 2 para la DL 50/30. Exceptuando al GLP/B04 que fue más tóxico, se consiguió esta radioprotección administrando unas dosis de estos polisacáridos que eran 1/4 de las que produjeron un significativo número de muertes en los ratones a las 2 semanas .

Los autores sugieren que esta elevación de la DL 50/30 es debida principalmente a la protección ofrecida por estos compuestos a las células madres de la médula osea .

La FIGURA 13 nos muestra siete BRMs que fueron ensayados por Chirigos y cols. (373) (374). Entre ellos, los siguientes: Glucan P (particulado), Picibanil (OK432), Glucan F (soluble), Lentinan, y el MVE2 demostraron protección significativa en el ratón sometido a una irradiación corporal total con 9 Gy .

FIGURA 13.

<u>BMR</u>	<u>ORIGEN</u>
Glucan P	Saccharomyces cerevisiae
Glucan F	Saccharomyces cerevisiae
Picibanil (OK432)	Streptococcus pyogenes
Lentinan	Lentinus edodes
MVE2	Sintético
Poly ICLC	Sintético
BM 41-332	Sintético

Modificado de:

CHIRIGOS, M.A., SAITO, E., SCHLICK, E., RUFFMAN, R: Cellular regulation by immunomodifiers MVE2 and Poly ICLC and their therapeutic application. Cancer Treatment Symp. 1985. 1:11-18.

CHIRIGOS, M.A., PATCHEN, M.L.: Survey of newer biological response modifiers for possible use in radioprotection. Pharmac. Ther. Pergamon Press. Oxford. 1988. 39:243-246.

1.3.3.3.3.-CITOKINAS.

1) LINFOKINAS.

2) MONOKINAS.

En los últimos 10 años los modificadores de la respuesta biológica (BRMs); también conocidos como Inmunomoduladores, han sido estudiados cuidadosamente para valorar su efecto beneficioso en condiciones de inmunosupresión o inmunodisfunción (375) (376) (377).

Para gran parte de los cánceres, las principales modalidades de tratamiento son la radioterapia y la quimioterapia. Estos tratamientos frecuentemente producen una supresión de la hematopoyesis en grado variable, con una reducción en el número de células madre hematopoyéticas y de su progenie (378) (379). Ha sido demostrado que muchos agentes que estimulan inespecíficamente las respuestas inmunológicas y hematopoyéticas pueden también funcionar como radioprotectores (380). Las investigaciones más recientes se han dirigido en el sentido de definir los efectos reguladores de los BMRs en la inducción y secreción de varias citokinas (linfokinas y monokinas) como un posible mecanismo mediante el cual los BMRs ejerzan su efecto en la mielopoyesis.

La proliferación y diferenciación de las células del sistema hematopoyético depende directamente de factores de crecimiento y diferenciación, que están producidos endogenamente por el huesped. Estos agentes, conocidos como citokinas (linfocinas producidas por los

linfocitos y monokinas producidas por los monocitos), son proteínas de acción hormonoide (381) sintetizadas y liberadas por las células del sistema inmunitario, macrófagos y linfocitos. Su liberación puede ser estimulada por agentes inflamatorios o por inmunomoduladores. Su producción se incrementa tras un traumatismo, en las infecciones y tras estímulo con irritantes exógenos. Las citokinas inducen el crecimiento y diferenciación de células componentes de los sistemas inmunitario, del tejido conectivo, vascular y endocrino (373) (382). La multiplicidad de funciones importantes inducidas por la citokinas nos indica que estos agentes juegan un papel esencial en la defensa contra las infecciones, en la vigilancia inmunitaria, en la recuperación tras una agresión y tal vez como mediadores del efecto radioprotector de los inmunomoduladores. En la FIGURA 14 se exponen sus FRD (383).

Debido a su potencial aplicación clínica, durante la última década se ha efectuado un considerable esfuerzo para purificar y caracterizar a estos agentes. Los recientes avances en biotecnología han dado como resultado la clonación de genes para muchas de ellas y su expresión y síntesis en bacterias y hongos. Esto ha hecho posible la evaluación de los beneficios terapéuticos de dosis farmacológicas de citokinas recombinadas purificadas.

La FIGURA 15 ilustra la sucesión de acontecimientos que pueden ocurrir tras la exposición de varios componentes celulares del sistema inmunitario a un BRM (373). Se inducen y secretan una o más citokinas [interleukina 1 (IL-1), alfa, beta o gamma interferón (IFN), factor estimulante de colonias (CSF), prostaglandina E (PGE)], como asimismo el factor de necrosis tumoral (TNF),

FIGURA 14.

CITOKINAS: Factor de Reducción de Dosis; Efectos en la estimulación de la hemopoiesis y Protección frente a las infecciones.

	<u>IL-1</u>	<u>IL-2</u>	<u>IL-3</u>	<u>CSF</u>	<u>IFN</u>	<u>TMF</u>
<u>F.R.D.</u>	1.15-1.25	NS	NC	NS	NS	1.1-1.5

EFFECTO EN LA
HEMOPOYESIS.

(Proliferación) + NC + + ** **

PROTECCION ANTE

LAS INFECCIONES. + + NC + + +

NS = No significativa. NC = No conocida.

* = Promueve la diferenciación celular.

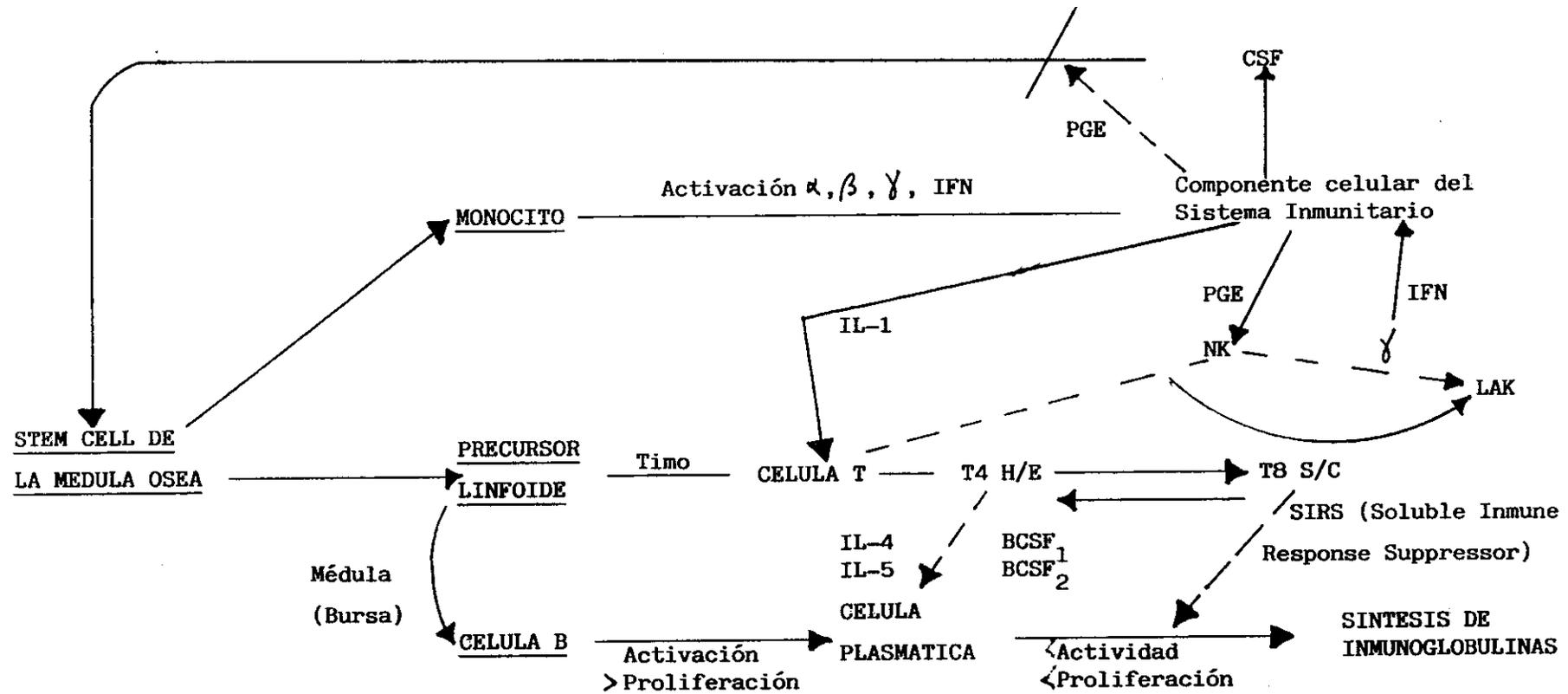


FIGURA 15 : Cascada de la producción y secreción de Citokinas, estimuladas mediante Modificadores de la Respuesta Biológica, y sus efectos en distintas poblaciones celulares.

y el factor activador del plasminógeno (PGF) , y regulan sucesivamente la activación de otros componentes celulares, conduciendo a la secreción posterior de linfoquinas que a su vez pueden modular a los linfocitos. Por ejemplo, la IL-1 amplifica al potenciador de la población de células T (T4,H/E). Otro regulador de las mismas, el supresor de las células T (T8,S/C), prolifera únicamente con las células B en el comienzo de la respuesta inmune, pero probablemente en una segunda fase. Se considera que la activación del supresor de las células T está facilitada por la interleukina 2 (IL-2), que se cree que despliega al supresor de las células T. El linfocito B tiene receptores de superficie que se unen al antígeno como primer paso en el proceso de producción de anticuerpos. Este proceso está facilitado por las células T "helper" mediante la producción y secreción de las linfoquinas interleukinas 4 y 5, también conocidas como factores estimulantes de las células B. Después de la activación, los linfocitos B se transforman en células plasmáticas a través de divisiones consecutivas y subsecuentemente secretan inmunoglobulinas. Las células T "supresoras" (T8) deprimen la respuesta inmunológica mediante otra linfoquina, el supresor soluble de la respuesta inmunitaria (SIRS). Los factores supresores actúan en gran parte sobre las células T4 o linfocitos "helper" o colaboradores (T4), a pesar de que existen evidencias que sugieren una acción directa sobre las células B en algunos casos (por ej. SIRS actuando directamente en las células B) . Las poblaciones celulares reguladas por las citocinas son las células "natural killer" (NK) y las células "lymphokine-activated killer" (LAK) .

El papel de estos reguladores celulares es importante, particularmente el de aquellos que son

cruciales en el mantenimiento de la hematopoyesis, y podrían tener un empleo terapéutico como agentes radioprotectores.

Las linfocinas que presentan una mayor acción radioprotectora son la IL-1 y la TNF. Ambas son liberadas por los macrófagos tras su estimulación por agentes inflamatorios. Netta et al. (384), observaron que en la administración combinada de IL-1 y TNF se obtenía un efecto aditivo en la acción radioprotectora.

El mismo autor sugiere (383) que la combinación de linfocinas puede ser más eficaz y menos tóxica que los tratamientos con compuestos inmunomoduladores.

No todos los efectos del tratamiento con IL (interleukinas) son deseables. Los efectos secundarios posibles son fiebre, escalofríos, artralgias, náuseas, vómitos, aumento de peso y retención de líquidos (381).

1.3.3.3.4.-PROSTAGLANDINAS.

Goldblatt, en 1935 (385), y von Euler, en 1936 (386), informaron por primera vez de la consecución de un incremento en la contracción del músculo liso tratado con líquido seminal. El componente bioactivo del líquido seminal fue denominado prostaglandina (PG) por von Euler. La naturaleza del componente bioactivo fue señalada por Bergstrom and Sjoval (387) quienes describieron dos PGs a partir de las vesículas seminales y

llamaron a una PGF debido a su solubilidad en fosfato y a la otra PGE por su solubilidad en eter.

Las investigaciones subsiguientes revelaron una familia de productos existentes naturalmente y que se producían a partir de al menos dos importantes procesos metabólicos desde el ácido araquidónico (AA) (388) (389) (390). Las evidencias sugieren que el AA es transformado, en pequeñas cantidades, en las membranas celulares a fosfatidilinositol y a fosfatidilcolina. Una vez liberado desde las membranas, liberación que esta mediada en parte por las fosfolipasas, el AA se metaboliza, produciendo algunos principios activos, por la vía ciclooxigenasa que a su vez produce PGs, o a través de la vía de la 5-lipoxigenasa que produce leucotrienos (LTs). En la actualidad se conoce el hecho de que la mayoría de las células de los mamíferos pueden sintetizar muchos productos a través de la cascada del AA (391).

En condiciones fisiológicas, las PGs se sintetizan "a demanda" y luego quedan ligadas a las membranas de la misma célula o de las adyacentes. Son catabolizadas rapidamente con vidas medias variables, pero cortas, que van desde unos segundos hasta pocos minutos; y por lo tanto las concentraciones medibles de PG en la mayoría de los tejidos y en el plasma son bajas. Las PGs a bajas concentraciones parecen ser mediadoras de un cierto número de fenomenos biológicos que ayudan al mantenimiento de las condiciones homeostásicas (392), pero la concentración cronicamente elevada de PG esta implicada en una parte de la patogenésis de enfermedades tan diversas como asma, defectos del metabolismo cálcico y angor pectoris.

La radioprotección inducida por las PG se comunicó por primera vez en 1972 por Prasad (393) quien demostró que la supervivencia de las células del ovario del hamster chino se aumentaba, in vitro, por la PGE1 administrada antes de una dosis única de radiación X. Mas tarde, Lehnert (394) publicó una serie de curvas complejas de supervivencia indicando que la PGE1 protegía a las células V-79 . Contrastando con estos resultados iniciales, otros investigadores no han podido demostrar la radioprotección inducida por las PG in vitro (395) (396).

A pesar de los contradictorios resultados encontrados in vitro, han sido encontradas pruebas consistentes de radioprotección inducida por las PG in vivo (391) (397) (398) (399) (400) (401).

Otra actividad reconocida de la IL-1 que puede contribuir a su efecto radioprotector es el aumento, mediante su administración, de la liberación de prostaglandinas in vitro e in vivo. Además, se ha visto recientemente que las prostaglandinas tienen un efecto radioprotector cuando se administran de 5 a 60 min. antes de la irradiación en dosis de 1-40 picogramos a cada raton (401) .

Neta y sus colaboradores valoraron (384) (403) el efecto de la indometacina, un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, en la radioprotección que se obtiene con la IL-1 . Se trató a ratones de la cepa C67B1/6 con IL-1, IL-1 mas indometacina, indometacina sola, y con una solución salina. Luego se expuso a los ratones a 950 cGy de irradiación gamma, con Co⁶⁰, una Dosis Letal 100/30 para esta cepa. La supervivencia de los ratones que recibieron indometacina mas IL-1 fue similar a la de los que recibieron unicamente IL-1 (82 %

contra 63 % respectivamente). De manera similar, la administración de indometacina sola no afectó a la supervivencia, lo que se desprende del hecho de que los ratones control tratados con solución salina y los tratados con indometacina y una solución salina murieron durante los 18 días después de la irradiación (con una supervivencia media de $12,8 \pm 3,6$ y $11,5 \pm 4,8$ días respectivamente). Si nos basamos en los resultados de estos estudios, podemos concluir que la radioprotección inducida por la IL-1 no está mediada por las prostaglandinas. Además el tratamiento con indometacina no prolongó la supervivencia, indicando que los niveles fisiológicos de prostaglandinas no tienen influencia en la duración de la supervivencia.

Las evidencias sugieren que las PGs afectan a las células a través de receptores de membrana (403) (404). En contraste, los compuestos con grupos sulfidrilos (p.ej. WR-2721) parecen efectuar su protección in vivo mediante un mecanismo dependiente de la concentración de SH probablemente asociado con la eliminación de radicales libres, con la donación de átomos de hidrogeno (405) o con la inducción de hipoxia (407). Las grandes diferencias de concentración para la máxima protección (picogramos para PGs versus miligramos para WR-2721) y la distinta relación dosis compuesto-respuesta, comparando los resultados de los dos estudios antes mencionados en los que los dos agentes se administraron en combinación (176) (399) (407), mostraron que dicha asociación tuvo mayor efecto radioprotector que cada uno de los agentes por separado.

Las evidencias presentadas por Hanson y cols. (391), Hanson (400), y Valden y cols. (401), mostrando que un tratamiento combinado de WR-2721 y PGs

administrado a animales fue más efectivo que cada uno por separado, sugieren que las PGs efectúan su protección por un mecanismo distinto a la de los compuestos sulfidrílicos. Sin embargo los datos demuestran que la PG debe estar presente antes, y sugieren que las PGs pueden alterar la biodistribución del WR-2721. Los trabajos y estudios futuros pueden encontrar caminos para aprovechar esta posibilidad de ampliar el grado de radioprotección más allá de los niveles máximos actuales por medio del mantenimiento de la toxicidad dentro de límites aceptables.

1.3.3.4.-ANTIEMETICOS.

1.3.3.4.1. INTRODUCCION.

Uno de los efectos de la exposición a una cantidad suficiente de radiación es la enfermedad aguda por radiación (408) (409).

Los efectos prodrómicos del SICT se caracterizan por náuseas, vómitos y malestar (fatiga, anorexia). Estos efectos se presentan generalmente a partir de la segunda hora postirradiación. Los vómitos se detienen usualmente al cabo de unas horas (410) (411) (412) (413). Las investigaciones con monos han demostrado que con irradiación a altas dosis (>10Gy) disminuye la incidencia de vómitos. Si incrementamos las dosis, se observa en algunos de estos animales una incapacitación franca de la conducta. Esta depresión funcional del SNC podría explicar la disminución de la capacidad para llevar

a cabo una actividad compleja como es el vómito (408).

Pueden asimismo observarse vómitos y diarreas de presentación más tardía tanto en animales como en humanos expuestos a una dosis letal de radiación. Se presentan aproximadamente a los 1-3 días postirradiación y en los estadios más tardíos que preceden a la muerte. Estos síntomas son debidos, al menos en parte, a procesos degenerativos (408). Además no deben ser originados por los mismos mecanismos eméticos ya que no responden a los mismos antieméticos que la náusea y el vómito que tienen lugar en la fase inicial que sigue inmediatamente a la irradiación (414).

Las náuseas y los vómitos continúan siendo factores de la mayor importancia que afectan a la cooperación del paciente y a su estado general y que pueden conducir potencialmente a la modificación de un tratamiento radioterápico (415). En los tratamientos que requieren la irradiación de un gran volumen del organismo y con unas dosis elevadas, como en la irradiación corporal total que precede al trasplante de médula ósea, el problema es importante y frecuentemente se trata mejor mediante una fuerte sedación del paciente (416) (417). El empleo de radioterapia fraccionada tratando pequeños volúmenes y con pequeños incrementos de dosis reduce la incidencia del vómito inducido directamente por la radiación (417). De todas formas, existen dos circunstancias que van en contra de una disminución sustancial de la incidencia de la emesis en los pacientes tratados con estos regímenes fraccionados, el vómito de anticipación debido a que los pacientes esperan que se presente (418) y el aumento de oportunidades que ofrece el tratamiento fraccionado para que los pacientes desarrollen un condicionamiento de conducta (419). Como consecuencia

de todo lo anterior existe una necesidad de disponer de compuestos antieméticos efectivos y aceptables.

Existe un problema importante que retrasa la investigación y desarrollo de nuevos fármacos antieméticos. En ensayos clínicos el efecto placebo algunas veces sobrepasa al 50% (415). Estos hallazgos han sido consignados recientemente por Pater y Willan (420), quienes hicieron hincapié en la necesidad de ensayos randomizados a doble ciego.

La FIGURA 16 (421) muestra varios grupos de antieméticos con algunos ejemplos.

1.3.3.4.2. NEUROLEPTICOS.

El grupo principal es el que comprende a los neurolepticos a pesar de que existen pocas evidencias apoyadas en estudios de doble ciego que nos indiquen la preferencia de un grupo sobre otros (413). Se ha prestado una gran atención a los efectos antidopaminicos de estos compuestos, debido a que la mayor parte de ellos efectúan una acción antiemética debida a la acción de los agonistas de la dopamina. De cualquier modo, los neurolepticos ejercen una acción depresora del SNC y su efecto antiemético puede ser un efecto colateral fortuito de la depresión del SNC. Por si esto fuera poco, los neurolepticos usados como antieméticos no solo son antagonistas de los dopaminoreceptores, sino que además muchos de ellos poseen propiedades anticolinérgicas, antihistamínicas y antiserotonérgicas (413) (422), lo que puede producir también efectos antieméticos.

FIGURA 16. Clasificación de los Antieméticos.

ANTIEMETICOS.

1.-NEUROLEPTICOS.

1.1.-Fenotiacinas.

1.2.-Butiroferonas.

2.-ANTICOLINERGICOS.

3.-ANTIHIISTAMINICOS H1 Y H2.

4.-TERAPIAS DE COMBINACION.

5.-OTROS ANTIEMETICOS.

5.1.-Metoclopramida.

5.2.-Domperidone.

5.3.-Cannabinoides sintéticos.

5.4.-Antiinflamatorios.

5.4.1.-Acido Acetil Salicílico.

5.4.2.-Indometacina.

5.5.-Nuevos Agentes.

5.5.1.-Dazopride (AHR 5531).

5.5.2.-BRL 42924.

5.5.3.-MDL 72222.

5.5.4.-ICS 205-930.

1.3.3.4.3. ANTIHISTAMINICOS,
ANTICOLINERGICOS Y
TERAPIAS DE COMBINACION.

El tercer grupo de antieméticos está constituido por los antihistamínicos, anticolinérgicos y terapias de combinación. Ni los antihistamínicos ni los anticolinérgicos por separado se emplean para reducir el vómito inducido por la radiación en humanos. Cooper y Mattsson (422) informaron que, en el perro, los antihistamínicos aumentaban la ED50 (emesis dosis 50) para el Co⁶⁰. También encontraron que los efectos antieméticos eran aditivos y que una combinación de neurolépticos y antihistamínicos producía un aumento mucho mayor de la ED50 (423). Tanto los fármacos como las dosis empleadas en estos experimentos realizados en perros imposibilitan su empleo clínico debido a los efectos depresivos colaterales y, por lo tanto, son necesarias más investigaciones que permitan encontrar combinaciones de agentes que sean efectivas y puedan usarse en pacientes irradiados. En la actualidad, las combinaciones de antieméticos son una práctica habitual en pacientes que reciben tratamiento quimioterápico y existen unos protocolos de tratamiento bien reglados que asocian a unos determinados quimioterápicos unas determinadas pautas antieméticas (424). En un estudio, a los pacientes que se les iba a tratar con irradiación hemicorporal a dosis elevadas (425) se les administró previamente una terapia de hidratación y se les premedicó con fluidos y con dosis consecutivas de prednisona e hidrocortisona y los síntomas prodrómicos se redujeron. Estos autores sugirieron que

los corticoesteroides y la hidratación administrados preirradiación eran la causa de esta reducción. Lo mismo sugiere otro estudio (426) en el que los pacientes estaban sometidos a unas condiciones similares de irradiación y en el que no se observó una reducción similar de los pródromos con varios tratamientos que incluían diacepam o metoclopramida pero que no incluían terapia de hidratación. Se trata únicamente de ejemplos aislados y sin confirmar, pero pueden ser importantes por cuanto ya se conoce la importancia de una adecuada hidratación en los pacientes que van a ser tratados con quimioterapia.

1.3.3.4.4. OTROS ANTIEMÉTICOS.

El quinto grupo lo constituye el conjunto de fármacos antieméticos que detallaremos a continuación.

La Metoclopramida administrada por vía endovenosa en altas dosis (427) [frecuentemente asociada con corticosteroides y difenhidramina, esta última para reducir los efectos extrapiramidales de la metoclopramida (428)] se emplea como tratamiento de los vómitos inducidos por los agentes quimioterápicos. Sin embargo no existen estudios de doble ciego que sugieran su utilidad en el paciente irradiado.

El Domperidone es un compuesto que teóricamente bloquea los receptores dopaminérgicos D₂ (429) y que no atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica. Teóricamente también, y a diferencia de las fenotiazinas, sería capaz de bloquear los receptores dopaminérgicos que se encuentran en el área postrema y que

serían los responsables del vómito, pero sin causar depresión del SNC. Esta teoría implicaría que el efecto antiemético de las fenotiazinas estaría centrado en los receptores dopamínicos del area postrema y no como efecto secundario de su acción sedativa. En dos pequeños ensayos clínicos, el domperidone parecía ser un antiemético efectivo en pacientes irradiados (430) (431) . Asimismo fue efectivo en la eliminación del vómito inducido por la radiación en perros (432) (433), pero no fue efectivo en un estudio efectuado con monos rhesus (434).

A pesar de que las cualidades antieméticas del domperidone fueron de interes en un principio (435), este fármaco se emplea en la actualidad en el tratamiento de la gastroparesis y no se han efectuado mas ensayos clínicos en pacientes irradiados.

Pasamos seguidamente a los cannabinoides. Se realizaron estudios con cannabinoides sintéticos que sugirieron su utilidad en la prevención del vómito inducido por los agentes quimioterápicos, pero antes de conseguir un efecto antiemético provocaban sedación y euforia y asimismo provocaban habituación (436). Otros estudios no demostraron que ofrecieran ventajas sobre la terapia antiemética convencional (metoclopramida) en los pacientes sometidos a quimioterapia (437), lo que ha provocado una disminución de su empleo.

Dos estudios efectuados con pacientes sometidos a radioterapia describen un cierto beneficio del tratamiento con cannabinoides sintéticos (438) (439), aunque los efectos colaterales y el pequeño beneficio terapéutico no nos brindan un gran soporte en favor de su empleo.

Proseguimos con los antiinflamatorios. En un ensayo, Mennie y cols. (440) emplearon ácido acetilsalicílico como pretratamiento para reducir la diarrea y otras complicaciones de la irradiación abdominal, incluyendo los vómitos. Carpenter y cols. (433) informaron recientemente que la indometacina reducía los vómitos en los perros que recibían irradiación abdominal. Gralla y otros (414) informaron que el ácido acetilsalicílico exacerbaba los vómitos en perros que recibían irradiación corporal total.

Es necesario un mayor número de trabajos en modelos experimentales animales para cuantificar y clarificar el papel potencial de la inflamación y en particular de las prostaglandinas (433), en el vómito inducido por la radiación.

Por último revisamos los nuevos agentes empleados. En modelos animales de laboratorio, se han empleado recientemente nuevas drogas para combatir los vómitos debidos a los compuestos quimioterapéuticos o a las radiaciones ionizantes. El Dazopride (AHR 5531) abolió la emesis en monos rhesus irradiados (432). Se ha comunicado una reducción de los vómitos inducidos por tratamiento con ciclofosfamida o radiación X en hurones mediante el empleo de una benzamida procinática, el BRL 24924 (441). Este agente bloquea los receptores 5-HT-M (442).

Estos agentes son representativos de un nuevo grupo de compuestos y de una nueva vía de abordaje al problema de los vómitos inducidos por la radiación. Estos y otros agentes, como el MDL 72222 (443) y el ICS 205-930 (444), presentan las mismas características que la metoclopramida respecto a su efecto antiemético pero sin

los efectos antagonísticos de la dopamina que presenta esta última (445). De todos los fármacos que se emplean en la actualidad o que están investigándose, este grupo de compuestos parece ser capaz de ofrecernos un efecto antiemético potente y específico con un mínimo de efectos graves colaterales, lo que requerirá una posterior comprobación con un mayor número de experimentos en modelos animales y posteriormente en ensayos clínicos.

1.4.- PERSPECTIVAS DE FUTURO EN LA INVESTIGACION

Y BUSQUEDA DE NUEVOS RADIOPROTECTORES.

1.4.1.-INTRODUCCION,

A pesar de que teóricamente se han "determinado" sus posibles mecanismos de actuación, lo cierto es que hemos avanzado poco desde el terreno empírico señalado con anterioridad. Podemos determinar si un compuesto tiene acción radioprotectora, podemos establecer el grado de esta acción y lo podemos representar mediante el concepto de FRD, pero el mecanismo y las vías concretas de actuación no son, hoy por hoy, más que objetos de especulación.

Parafraseando a Rasey (446), refiriéndose al mejor radioprotector del que disponemos en la actualidad, el WR-2721: "Mientras que los diferentes grados de radioprotección de un compuesto están bien documentados, las razones para ello aún son especulativas y seguirán siéndolo hasta que la farmacocinética, el metabolismo, su interacción con los tóxicos endógenos y los mecanismos del efecto radioprotector sean mejor entendidos".

Por otra parte, diversos estudios sugieren que algunos compuestos con acción radioprotectora la ejercen de forma selectiva sobre las células sanas y no sobre las tumorales. La consecución de una acción radioprotectora selectiva es un objetivo muy atractivo y en el se ha venido trabajando desde hace décadas, sin embargo esta selectividad no ha sido demostrada de forma

convinciente al menos con los compuestos de que disponemos en la actualidad (447).

Una de las causas que han imposibilitado esta demostración es la existencia de efectos tóxicos colaterales provocados por estos compuestos, pero el mayor obstáculo es el desconocimiento mencionado anteriormente de los mecanismos básicos por los que efectúan su acción protectora a nivel celular y tisular tanto los compuestos ya existentes como los de nueva aparición.

Según las tendencias actuales, las futuras líneas de investigación en este tema deberán ser (14):

1) Seguir investigando en la línea de encontrar otros compuestos radioprotectores que sean al menos iguales y a poder ser más efectivos que el WR-2721 pero con menos efectos secundarios.

2) Investigaciones encaminadas a mejorar nuestro conocimiento sobre los mecanismos de actuación de los radioprotectores y a la comprobación de su acción selectiva sobre los tejidos normales (los que la posean).

3) Intentar esclarecer las razones por las que los radioprotectores no actúan a nivel tumoral mediante estudios "in vitro" con cultivos de células tumorales humanas.

4) Profundizar en las investigaciones que se están llevando a cabo por numerosos autores sobre tratamientos con combinaciones de radioprotectores intentando conseguir con ellas un posible incremento de su acción y una disminución de los efectos tóxicos que provocan los radioprotectores más activos.

5) Investigar en la aplicación y ensayo de sustancias o compuestos que puedan, basándonos en sus propiedades químicas o en sus efectos clínicos, potenciar la acción de radioprotectores "probados" (448).

Como se ha descrito anteriormente, las evaluaciones clínicas efectuadas para comprobar la eficacia de los radioprotectores para su uso en la terapéutica del cancer se han centrado en su capacidad para modular el daño agudo provocado por los agentes terapéuticos a los tejidos normales limitadores de dosis.

A través del empleo juicioso de los radioprotectores como adyuvantes en protocolos terapéuticos bien diseñados, puede ser posible no solo mejorar el beneficio terapéutico, sino además reducir significativamente el riesgo de la inducción iatrogénica de cánceres secundarios en pacientes caracterizados por tener un excelente pronóstico para la curación o para la supervivencia a largo término (241).

1.4.2.-TIOLES.

La causa principal de la muerte celular radioinducida es el daño causado al DNA, especialmente las roturas dobles (20). Se ha demostrado que los aminotioles protegen contra las roturas simples y dobles (113), pero que no brindan protección contra otro tipo de lesión del DNA, como el daño en los nucleótidos (65). El modelo de reacción competitiva oxígeno-tiol, que puede ser aplicado para algunos tipos de lesiones del DNA puede que no sea

válido para los radicales de las bases del DNA (65). De todas formas parece digno de consideración el estudio de la protección específica contra los varios tipos de lesiones que se pueden producir en el DNA. Deben iniciarse experimentos para desarrollar métodos de detección de la radioprotección a nivel molecular después de la exposición a la radiación in vivo. Se considera que los radicales libres son responsables de aproximadamente el 70% de las roturas simples del DNA (16) (19). Es necesario un mayor estudio del papel que representa la eliminación de los radicales libres comparada con los procesos de reparación química en la protección contra los diferentes tipos de lesiones del DNA. A este respecto es importante tener un mayor conocimiento sobre las concentraciones de aminotioles endógenos y exógenos en el núcleo celular y sobre la unión de los tioles al DNA (65).

Ya sabemos que la fosfatasa alcalina juega un papel esencial en la conversión, defosforilándolo, del WR-2721 en su metabolito activo el WR-1065. De lo anterior se desprende que la modulación de la actividad de la fosfatasa alcalina podría posiblemente aumentar o disminuir la radioprotección. Los efectos conseguidos con la inhibición y el aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina se están investigando actualmente en el modelo animal empleando ratones (449).

También hemos visto como los radioprotectores como el WR-2721 y su tiol libre el WR-1065 han sido investigados extensamente debido a su potencial para incrementar el beneficio terapéutico sobre el cáncer como consecuencia de su capacidad para proteger diferencialmente al tejido normal comparado con los tejidos neoplásicos. Los mecanismos potenciales mediante los cuales estos agentes manifiestan sus efectos

protectores son numerosos. Sin embargo, el énfasis para los futuros estudios no debe dirigirse solamente investigando su capacidad para reducir el daño radiación/químico inicial, sino que asimismo deben efectuarse investigaciones encaminadas a una mayor comprensión de su capacidad para afectar los procesos postirradiación que están implicados en la mutagénesis, transformación y carcinogénesis (238).

Debido a que, de momento, no se han conseguido radioprotectores más activos y menos tóxicos que el WR-2721 y la Cisteamina, algunos investigadores han intentado con cierto éxito incrementar la radioprotección y/o disminuir la toxicidad de estos compuestos mediante el uso de combinaciones de estos entre si y con otros protectores (231) (450) (451).

1.4.3.-ANTIOXIDANTES.

Como se señala anteriormente, una aproximación a la consecución de una radioprotección más efectiva y duradera puede ser el uso de compuestos aditivos a los tioles como se describió por Floersheim y Floersheim en 1986 (451). Estos autores encontraron que la administración de asparatato de zinc protegía al ratón frente a la radiación gamma y que además tenía un efecto sinérgico con los tioles. Atribuyeron esta última observación a una estabilización de los tioles por la formación de complejos de zinc.

Asimismo Martin (452) propone el empleo del litio como radioprotector después de haber estudiado las variaciones estructurales y funcionales provocadas por su administración en ratas Wistar.

Como hemos visto anteriormente, el WR-2721 es en la actualidad el compuesto que proporciona una mayor protección frente a la mortalidad aguda provocada por las radiaciones ionizantes en los roedores, sin embargo su empleo en humanos está condicionado por su toxicidad (277). Weiss y cols. (278), comunicaron en 1987 que la administración intraperitoneal de Se, 24 horas antes de la administración del WR-2721, aumentaba la radioprotección de este último y disminuía su toxicidad aguda. Una vez más nos encontramos con las perspectivas de futuro que nos brindan las combinaciones de compuestos radioprotectores.

También hemos visto que la manipulación de los niveles de la vit. E in vitro (285) (286) e in vivo (287) (288) (289) ha demostrado tener efectos significativos en las lesiones radioinducidas en la membrana. Sin embargo, el empleo de tocoferoles como radioprotectores efectivos in vitro, tendrá que esperar a que poseamos una mayor comprensión de su farmacología y, posiblemente, al desarrollo de análogos más efectivos (281) (290).

1.4.4.-MODIFICADORES DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA.

La dirección de las futuras investigaciones está dictada por una clara percepción de cual es el problema más importante. Si asumimos que el objetivo es determinar como incrementar la supervivencia de los animales irradiados, incluyendo al hombre, mediante el uso de inmunomoduladores solos o en combinación con otros compuestos, deben considerarse las siguientes estrategias.

El inmunomodulador ideal debe ser de baja toxicidad y tener un alto valor terapéutico en un animal apropiado para servir de test, que no sea un roedor. Debido a las marcadas diferencias en sensibilidad de los roedores y los humanos y debido al efecto pirógeno y a otros efectos farmacológicos adversos de la endotoxinas, de sus derivados o de otros productos microbianos, debe efectuarse un esfuerzo conjunto interdisciplinario (médicos, farmacólogos, bioquímicos, radiobiólogos, etc) para identificar el modelo mas apropiado. La búsqueda de agentes activos con una toxicidad reducida, como el glucan modificado, lipido A, esta enfocado en la dirección apropiada (343) (370). Otros poliglucanos extraídos de las levaduras poseen unas propiedades radioprotectoras muy interesantes que parecen ser diferentes de las relacionadas con las endotoxinas y que deben ser exploradas concienzudamente. Maisin y cols. (371) estudiaron algunos compuestos que son más efectivos que las endotoxinas y pueden actuar como dosis-reductores. La posibilidad de que un polisacárido microbiano pueda inducir la producción de sustancias endógenas con propiedades radioprotectoras parece ser un nuevo e importante hallazgo que merece ser estudiado en profundidad.

El Muramil dipéptido es un inmunoadyuvante sintético análogo a una subunidad de peptidoglican bacteriano (453). Esta sustancia y sus análogos producen algunos efectos fisiológicos parecidos a los de las endotoxinas o de otros polisacáridos complejos microbianos. Estos incluyen pirogenicidad, inducción de la actividad estimuladora de colonias, modulación de la mielopoyesis (454), estimulación de las células formadoras de colonias de la médula (455) y estimulación de la

resistencia inespecífica a las infecciones. El Muramil dipéptido y sus derivados parecen ser dignos de estudio en lo que a sus efectos radioprotectores se refiere.

La investigación encaminada al entendimiento de los mecanismos de la protección frente a las radiaciones obtenida por medio de endotoxinas u otros polisacáridos microbianos es altamente importante. En contraste con los efectos radioprotectores de los aminotioles, los efectos de las endotoxinas son atribuibles a factores potenciados o tal vez inhibidos desde el interior del organismo del animal huésped. Como ha señalado Behling (456), mediante la endotoxina se producen algunas citokinas y, como consecuencia, se han comunicado ciertos grados de radioprotección para los factores humorales transferidos pasivamente (456) (457), y es evidente, por lo tanto, que los estudios que se realizarán sobre las citokinas inducidas por endotoxinas podrían ser productivos. Recientemente se ha demostrado que la Interleukina 1 tiene un efecto radioprotector en el ratón (402). Las Interleukinas 1 y 2 tienen influencia sobre la función de los tímocitos irradiados (458). También se ha comunicado que el tratamiento con Interferón administrado al ratón, postirradiación, incrementaba su supervivencia (459). La Prostaglandina E2 también ha aumentado la supervivencia del ratón irradiado, pero su relación con el fenómeno de la protección por endotoxinas aún no está claro (460). Si se puede indentificar a los mediadores responsables de la radioprotección obtenida con endotoxinas y otros polisacáridos complejos que están relacionados con ellas, las herramientas de la biología molecular moderna ofrecen el potencial para la producción de cantidades significativas de agentes que sean relativamente no tóxicos a través del empleo de tecnología de recombinación (461).

Los futuros estudios, efectuados multidisciplinariamente, incrementarán nuestra comprensión en lo concerniente a las respuestas de los mamíferos frente a los inmunomoduladores, sobre los mecanismos de defensa del huésped y sobre los procesos reguladores, tanto a nivel celular como molecular, y darán como resultado la aplicación de nuevos inmunoestimuladores que sean capaces de proteger al hombre contra los efectos letales agudos de las radiaciones ionizantes.

1.4.5.-ANTIEMETICOS.

Hemos visto anteriormente que existe un problema importante que retrasa la investigación y desarrollo de nuevos fármacos antieméticos. En ensayos clínicos el efecto placebo algunas veces sobrepasa al 50% (415), por lo que Pater y Willan (420) hicieron hincapié en la necesidad de ensayos randomizados a doble ciego.

En cuanto a la Metoclopramida, que administrada por vía endovenosa en altas dosis (427), se emplea como tratamiento de los vómitos inducidos por los agentes quimioterápicos sin que este tratamiento esté refrendado por estudios de doble ciego que sugieran su utilidad en el paciente irradiado.

El Domperidone es un compuesto que teóricamente bloquea los receptores dopaminérgicos D₂ (429) y que no atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica. Teóricamente también, y a diferencia de las fenotiazinas, sería capaz de bloquear los receptores dopaminérgicos que se encuentran en el área postrema y que

serían los responsables del vómito, pero sin causar depresión del SNC.

Aunque en dos pequeños ensayos clínicos este compuesto parecía ser un antiemético efectivo en pacientes irradiados (430) (431), y que también fue efectivo en la eliminación del vómito inducido por la radiación en perros (432) (433), no fue efectivo sin embargo en un estudio efectuado con monos rhesus (434) y serían necesarios más ensayos clínicos en pacientes irradiados.

Es necesario un mayor número de trabajos en modelos experimentales animales para cuantificar y clarificar el papel potencial de la inflamación y en particular de las prostaglandinas (433), en el vómito inducido por la radiación.

Si consideramos a los nuevos agentes empleados como el Dazopride y el BRL 42924, veremos que son representativos de un nuevo grupo de compuestos y de una nueva vía de abordaje al problema de los vómitos inducidos por la radiación. Estos y otros agentes, como el MDL 72222 (443) y el ICS 205-930 (444), presentan las mismas características que la metoclopramida respecto a su efecto antiemético pero sin los efectos antagonísticos de la dopamina que presenta esta última (445). De todos los fármacos que se emplean en la actualidad o que están investigándose, este grupo de compuestos parece ser capaz de ofrecernos un efecto antiemético potente y específico con un mínimo de efectos graves colaterales, lo que precisará una comprobación mediante estudios en modelos animales y en ensayos clínicos.

1.5.-EL LITIO COMO POSIBLE RADIOPROTECTOR.

El litio es un cuerpo simple, metálico, de color blanco. Es el más ligero y simple de los metales alcalinos y tiene un peso atómico de 6,49. Farmacológicamente se presenta en forma de sal; habitualmente como citrato y también como carbonato, yoduro o salicilato. Tiene una valencia "+" lo que implica que se comporta como reductor (462).

1.5.1.FARMACOLOGIA.

A pesar de que se encuentra en los tejidos animales en pequeñas cantidades no tiene una función fisiológica conocida. Sus mecanismos de acción no se conocen totalmente pero se sabe que, como catión monovalente, compite con otros cationes mono y divalentes (potasio, sodio, calcio, magnesio) en las membranas celulares, donde el litio las atraviesa rápidamente a través de los canales del sodio y, cuando está en elevadas concentraciones, bloquea los canales del potasio. También compite en el nivel de las proteínas celulares sensibles a las concentraciones usuales de cationes y en las localizaciones celulares de transporte para los cationes mono y divalentes (463).

También interacciona con procesos del AMPc incluyendo a aquellos regulados por hormonas polipeptídicas. El litio reduce las concentraciones

intracelulares de AMPc mediante la inhibición de la adenilato ciclasa. (463).

Altera el transporte de sodio en las células nerviosas y musculares y altera el metabolismo intraneuronal de las catecolaminas. (464).

FARMACOCINETICA.

El litio se absorbe con rapidez desde el aparato digestivo (463) (464) (465). La comida no parece afectar a su biodisponibilidad. La absorción de las tabletas y cápsulas convencionales de citrato de litio se completa normalmente en 1-6 h. con los niveles más elevados en suero normalmente a las 0.5-3 h.. las soluciones orales de citrato de litio se absorben más rápidamente alcanzándose las concentraciones más elevadas de litio en suero entre 15-60 m. Durante las primeras 6-10 h. después de la administración su concentración en suero fluctua dependiendo de su absorción y de su distribución tisular (466).

Se distribuye ampliamente a la mayor parte de los tejidos y fluidos corporales. Pasa inicialmente al líquido extracelular y entonces se va acumulando gradualmente en varios grados en los tejidos. Se distribuye rápidamente a los tejidos tiroideo, óseo y cerebral. Las concentraciones en estos tejidos frecuentemente son un 50 % mayores que las concentraciones simultaneas en suero. Se distribuye más lentamente y de forma menos completa al corazón, pulmón, riñón y músculo. Las concentraciones en estos tejidos son aproximadamente iguales que las del suero. Sus concentraciones en el hígado son normalmente el 30-50 % de las simultáneas del suero (463).

El litio también se distribuye en la saliva. La relación entre las concentraciones en la saliva y en el suero muestra considerables variaciones interindividuales pero una vez se alcanza una situación estable estas son muy pequeñas. En este estado las concentraciones en saliva son de 2 a 3 veces mayores que en el suero (466).

Se distribuye al interior de los eritrocitos contra un gradiente de potencial electroquímico que es de dirección opuesta al gradiente del ión sodio. En situación estable sus concentraciones en los eritrocitos pueden variar desde un 30-90 % con respecto a las del suero pero normalmente no sobrepasan el 50 % de las mismas.

El litio se distribuye inicialmente en un volumen aparente que es el 25-40 % del peso corporal y más tarde en un volumen que es igual al del total del agua corporal. Cruza libremente la placenta y las concentraciones en el suero fetal son iguales que las del suero de la madre (465). La leche de las mujeres lactantes contiene unas concentraciones de litio que son aproximadamente un 30-50 % que las del suero.

Su concentración en suero parece disminuir de una forma bifásica. En pacientes que tienen una función renal normal, se ha observado, después de la administración de una dosis única de litio, una vida media inicial de 0.8-1.2 h. y una vida media final de 20-27 h.. Estos valores aumentan en pacientes ancianos y en pacientes con función renal disminuida (463) (464) (465).

El litio no se metaboliza y se excreta casi completamente por la orina. Aproximadamente el 80 % del

litio que es filtrado por el glomérulo renal se reabsorbe en los túbulos proximales renales. De este modo, su aclaramiento renal plasmático es aproximadamente el 20 % de la filtración glomerular (20-40 ml/m.). La reabsorción en el túbulo proximal tiene lugar contra gradientes de concentración y eléctricos que no distinguen entre el sodio y el litio. Más allá del túbulo proximal su reabsorción es mínima y por esta razón la mayor parte de los diuréticos no aumentan el aclaramiento renal de litio (466).

Aproximadamente el 95-99 % de una dosis única de litio se excreta por la orina. Pueden excretarse pequeñas cantidades por las heces como litio no absorbido o por el sudor. En pacientes con función renal normal, aproximadamente el 30-70 % de una dosis única es excretado por la orina en 6-12 h. y el 50-80 % a las 24 h.. El restante es eliminado más lentamente en un total de 10-14 días. (463).

1.5.2.-USOS CLINICOS.

Las sales de litio se han empleado en el tratamiento de bastantes enfermedades psiquiátricas, pero principalmente en el tratamiento de pacientes con desórdenes afectivos, especialmente en cuadros maníacos, depresivos, maníaco-depresivos y depresiones mayores.

A) Cuadros maníacos agudos: Una experiencia clínica muy extensa ha demostrado que el litio es efectivo en el tratamiento de la manía aguda y en la fase maníaca aguda

de las alteraciones maniaco-depresivas. El compuesto es generalmente efectivo brindando un control del 60-80 % de los episodios maniacos e hipomaníacos agudos en un plazo de 10-12 días después del inicio de la terapia, siendo más efectivo en el tratamiento de la manía aguda. De los datos de algunos ensayos clínicos controlados el litio parece ser más efectivo que la clorpromacina en el tratamiento de la manía aguda. Es particularmente efectivo en la reducción de la sintomatología de la manía, especialmente delirios de grandeza, manías persecutorias, hiperexpansividad, irritabilidad y ansiedad (463).

B) Depresión: Parece ser un antidepresivo efectivo en algunos pacientes afectos de depresión aguda. La sintomatología depresiva (incluyendo sentimientos de desesperanza y culpabilidad, retardo psicomotriz, pérdida de peso, falta de sueño e ideas suicidas) mejora durante el tratamiento con litio. En pacientes con depresión aguda el tratamiento provoca unas respuestas globales del 60-80 % (incluyendo respuestas completas y parciales). En diversos estudios controlados los efectos antidepresivos del litio fueron aproximadamente iguales que los de los antidepresivos tricíclicos y, en uno de ellos, la imipramina fué más efectiva que el litio. Debido a que la efectividad de otros antidepresivos (p.ej. los antidepresivos tricíclicos) en el tratamiento de la depresión aguda está mejor estudiada y a que el litio puede empeorar la sintomatología depresiva en algunos pacientes, la mayor parte de los clínicos reservan el empleo del litio a los pacientes deprimidos que no responden a los otros antidepresivos (463) (464) (465).

C) Profilaxis de cuadros maniaco-depresivos: Aproximadamente el 65-90 % de los pacientes afectos presentan recaídas si no se les trata en los intervalos. Cuando reciben un tratamiento de mantenimiento con litio únicamente recae un 40 % en los primeros dos años de tratamiento. En estos pacientes el litio es más efectivo en la prevención de los signos y síntomas de la manía que los de la depresión (463).

D) Tratamiento de la neutropenia y anemia: Debido a la necesidad que surge en ocasiones, sobre todo en algunos momentos de los tratamientos oncológicos, de obtener y utilizar agentes farmacológicos que eleven los niveles de leucocitos, se han empleado diversos fármacos como la hidrocortisona, prednisona, endotoxinas, etiocolanolona, epinefrina y sales de litio. Los cuatro primeros actúan movilizand o los leucocitos polimorfonucleares desde las reservas de la médula ósea, la epinefrina moviliza las reservas marginales y solo el litio incrementa la cantidad de leucocitos mediante la estimulación de su producción (467). Se ha empleado el litio para tratar neutropenias y anemias de varias etiologías pero únicamente se han realizado estudios bien controlados en pacientes afectos de leucopenia secundaria a tratamientos quimioterápicos antineoplásicos. En un número limitado de pacientes con neutropenia secundaria a pautas mielodepresivas quimioterápicas, la adición de litio ha disminuido el tiempo de duración de la neutropenia. Además se observó una disminución del número de hospitalizaciones debidas a infecciones sufridas por estos pacientes. Asimismo se redujeron los fallecimientos debidos a infecciones. El litio tiene eficacia, aunque menor, en el tratamiento de pacientes afectos de neutropenias congénitas o idiopáticas y de anemia aplásica. En estos pacientes produjo una

elevación del recuento de leucocitos y/o eritrocitos (463) (465).

E) Otros usos: Ha sido empleado en el tratamiento del hipertiroidismo aunque en la actualidad, y debido a sus efectos secundarios, se ha descartado su empleo en favor de otros tratamientos. También se ha empleado para prolongar la presencia de radiactividad en el tiroides en pacientes recibiendo tratamiento con yodo radioactivo, aunque por ahora su indicación en estos casos está en estudio (463).

1.5.3.-EFECTOS SECUNDARIOS.

El litio, como muchos otros fármacos, presenta un margen terapéutico muy estrecho. Se pasa fácilmente, por tanto, de las dosis terapéuticas a las tóxicas.

Pueden producirse algunas reacciones adversas a niveles en suero aproximadamente iguales a 1.5 mEq/l., reacciones de ligeras a moderadas a niveles que van desde 1.5 a 2.0 mEq/l. y reacciones de moderadas a severas cuando los niveles en suero van de 2.0 a 2.5 mEq/l..

Cuando se inicia un tratamiento con litio pueden presentarse los siguientes síntomas, que desaparecen normalmente al seguir el tratamiento o al disminuir las dosis: Temblor fino de manos, poliuria, discreta sed, discretas náuseas y malestar general (466).

Dependiendo de sus concentraciones en sangre pueden presentarse los siguientes cuadros de toxicidad (464):

a) Con niveles menores o iguales a 1.5 mEq/l puede producirse un cuadro de sintomatología leve que consiste en: Nauseas, vómitos, diarrea, sed, poliuria, letargo, concentración reducida, debilidad muscular y temblor fino de manos.

b) Con niveles menores o iguales a 2.0 mEq/l puede producirse un cuadro de sintomatología moderada que consiste en: Síntomas gastrointestinales persistentes, apatía, temblor de manos aumentado, confusión mental, hiperirritabilidad muscular, cambios en el ECG, somnolencia e incoordinación.

c) Con niveles mayores a 2.0 mEq/l se produce un cuadro de intoxicación severa que consiste en: Ataxia, gran eliminación de orina diluida, cambios graves en el ECG, fasciculaciones, visión borrosa, movimientos clónicos, estupor, hipotensión severa y coma. En estos casos los fallecimientos se deben normalmente a las complicaciones pulmonares.

En este último caso se producen lesiones en cerebro, corazón (arritmias, hipotensión, colapso circulatorio periférico, bradicardia) y riñones (nefrosis glomerular e intersticial y atrofia de la nefrona, disminución de la reabsorción de Na por los túbulos lo que conduce a una deplección de sodio y por último a una disminución de la capacidad de concentración urinaria por el riñón lo que origina una diabetes insípida que a su vez

produce polidipsia y poliuria con lo que aumenta la deshidratación y por consiguiente la concentración de litio) que producen la entrada en un círculo vicioso que llevará al coma y al fallecimiento del individuo (464).

Como un efecto secundario mucho más banal, se ha descrito el aumento de peso en pacientes sometidos a tratamientos prolongados con litio (468).

1.5.4.EL LITIO COMO POSIBLE RADIOPROTECTOR.

Teóricamente, una vez incorporado al medio intracelular previamente a la irradiación, debería actuar como radioprotector uniéndose a los radicales libres negativos producidos por la acción indirecta de las radiaciones ionizantes, eliminándolos mediante la formación de compuestos que ya no serían capaces de producir lesiones celulares (19).

La acción de la radiación sobre el agua intracelular provoca la disposición en forma esférica de los elementos que la forman (protones H^+ , iones hidroxilos OH^- , H atómico y e^- libres) (19).

Las macromoléculas orgánicas empezarían a reaccionar por la parte de fuera de estas esferas, en las cuales estarían situados los electrones libres, que serían los primeros en reaccionar.

En este nivel el litio tendría dos posibilidades teóricas de actuación:

1) La unión de dos iones de Li^+ a dos e^- , que nos conducirían a la obtención de litio molecular.

2) La unión de un ión de Li a un ión hidroxilo: $\text{Li}^+ + \text{OH}^-$, lo que formaría un molécula de hidróxido de litio.

Podemos observar que la segunda opción sería la que teóricamente tendría una mayor efectividad radioprotectora debido a la eliminación de radicales hidroxilo que, como se ha visto anteriormente son responsables en gran parte del daño producido por la acción indirecta de las radiaciones ionizantes.

Existen varios estudios, que describen algunas posibles aplicaciones del litio como radioprotector.

En 1977, Kondakova y Levitman, de la Academia de Ciencias de la USSR, realizaron un estudio del efecto que tenían varias concentraciones de sales de metales alcalinos (LiCl y NaCl) en el DNA dañado por la radiación Gamma (469). Los resultados fueron que ambas sales protegían igualmente al DNA frente a la disminución de la viscosidad producida por las radiaciones gamma.

Grivtsev, Tsibuliskii y Gostsuljak, del Instituto Médico de Odessa, describieron en 1978 (470) que la irradiación corporal total de conejos con una dosis única de 450 R con Rx producía variaciones de la concentración de litio en cerebro, riñones, intestino delgado y sangre.

En 1983, Gallicchio, Chen, Watts y Gamba-Vitalo, de la Universidad de Yale, publicaron (471) los resultados de un estudio realizado en ratones a los que se sometió a irradiación corporal total con dosis de 200 rads. Los resultados del grupo que fué tratado con litio inmediatamente después de la irradiación frente a los del grupo control mostraron la capacidad del litio para estimular la recuperación de la granulopoyesis de forma efectiva, no solo elevando el recuento de leucocitos en sangre periférica sino además aumentando el número de CFUs de la médula ósea y del bazo. Asimismo fué efectivo en la prevención de la leucopenia postirradiación.

Rose, Kehrberg, Saul y Pradel, de La Universidad de Berlín Este, realizaron en 1985 y publicaron (472) los resultados de un estudio en el que la administración de litio redujo el tiempo de leucopenia aguda post-irradiación corporal total mediante la producción de un incremento de leucocitos en sangre periférica.

Asimismo Rose, Saul y Kehrberg publicaron en el mismo año los resultados de otro estudio (473) en el que la administración de litio a un grupo de ratas sometidas a una irradiación hemicorporal caudal fraccionada (5 x 300 cGy) produjo una menor leucopenia que en el grupo control.

Moroz, Deshevoy, Tsybanev, Knayzeva y Protserova demostraron, en un estudio realizado en 1986 (474), que la administración de litio durante los cinco días postirradiación a ratas y ratones, que fueron sometidos a irradiación corporal total con 6 Gy, tenía un efecto estimulante en la granulopoyesis, eritropoyesis y linfopoyesis en la médula ósea. En esta experiencia la

administración de litio no produjo ningún efecto regenerador del tejido linfoide en el timo ni en el bazo.

En 1987, Marczyńska, Kulpa, Skolyszewsky, Sobon y Migdal del Instituto Oncológico de Cracovia publicaron un estudio (475) realizado en 51 pacientes de cancer que fueron tratados con irradiación de Rx. En todos ellos se administró carbonato de litio debido a la leucopenia radioinducida que presentaron y su administración produjo un incremento significativo del número de leucocitos en sangre periférica posibilitando de este modo la continuación del tratamiento radioterápico. Simultáneamente fué observado por los autores una disminución significativa de la concentración de potasio en el suero de los pacientes.

En otro estudio realizado en 1988, Moroz, Deshevoy, Tsybanev y Adyushkin (476) observaron que la administración de 50 mg/Kg de carbonato de litio una vez al día durante siete días, iniciándose a los cinco días después de la irradiación, estimuló la restauración del número de stem cells hematopoyéticas (CFUs) en la médula ósea de ratones que previamente habían sido sometidos a una irradiación corporal total con 6 Gy. El estudio histológico de la distribución de los tipos de colonias hematopoyéticas exógenas producidas por las CFUs de la médula ósea en el bazo reveló una formación activada de todas las variedades de colonias sin ninguna prevalencia de la estimulación de ningún tipo de colonia sobre otras.

No puedo finalizar este apartado sin dedicar una especial atención al trabajo publicado en 1982 por Vacek, Sikulova y Bartonickova en Suecia (477).

Los autores, pertenecientes al Instituto de Biofísica de la Academia Checoeslovaca de las Ciencias, efectuaron varios experimentos para estudiar las variaciones en la radioresistencia de ratones a los que se alimentaba durante tres semanas con una dieta que contenía litio suministrado en forma de carbonato. La concentración de litio en el suero se llevó a unos niveles de 0.5 mmol/l en los primeros tres días de la alimentación y se mantuvo en este nivel hasta el final de la misma. Posteriormente se sometió a los animales a irradiación corporal total con 1.2 Gy. Se encontró que en los animales a los que se había administrado litio tenían un 80 % más de stem cells en el bazo que el grupo control que se había irradiado sin recibir litio previamente. Previamente a la irradiación (a los 21 días de la dieta con litio) se efectuó un estudio de la actividad proliferativa de las stem cells hematopoyéticas y se encontró que era superior en un 200 % a la de la serie control.

Las conclusiones fueron que el incremento de la resistencia a la radiación que se observaba en los ratones que habían sido tratados con sales de litio previamente a la irradiación podría ser debida tanto al aumento del contenido y de la resistencia de las stem cells hematopoyéticas, como a la estimulación de la granulopoyésis.

1.6.-OBJETO DEL TRABAJO.

En base a los resultados publicados por Martín, Pardo, Moratinos, Menendez y Gutierrez en 1990 (478) y en el estudio realizado por Martín, también publicado en 1990 (452), donde se estudian los efectos de la irradiación corporal total sobre ratas Wistar, esta experiencia pretende, en primer lugar, establecer la dosis letal 50/30, en nuestras condiciones de trabajo, para dichos animales con irradiación gamma de Co^{60} ya que existen divergencias en la literatura sobre cual es dicho valor (10) (479), o en su defecto establecer una dosis lo suficientemente cercana que pueda usarse como referencia para futuros trabajos.

En segundo lugar se pretende efectuar una valoración sobre la utilidad del litio como radioprotector metabólico. Esta valoración se efectuará desde tres pilares fundamentales que son:

A) SUPERVIVENCIA.

Esta consideración es de capital importancia para el tema que nos ocupa ya que la función primordial de un radioprotector es la de aumentar la supervivencia celular, orgánica e individual puesto que la alteración básica que producen las radiaciones ionizantes tanto sobre la célula, considerada como unidad básica orgánica, como sobre el individuo, considerado como conjunto de células y órganos, es un acortamiento de la vida.

Se evaluará en primer lugar si la administración de Litio a los animales de experimentación previamente a su irradiación con una dosis igual a la DL 50/30 tiene alguna influencia en la supervivencia de estos animales a los 30 días postirradiación, calculando el FRD para este parámetro.

También se evaluará, en el caso de que el número de animales muertos al cabo de los 30 días no tenga una variación estadísticamente significativa con el grupo control, la existencia de variaciones en la secuencia de producción de estas muertes. Es decir, no es lo mismo que, al cabo de treinta días postirradiación, hayan muerto el 50 % de los animales de forma escalonada, que las muertes se produzcan en el último período de ése intervalo. Este último supuesto aplicado a la clínica humana aportaría una mayor uniformidad en la posibilidad de aplicación de tratamientos correctores a los pacientes afectados.

B) CRITERIOS ANATOMOPATOLOGICOS.

La aportación del estudio anatomopatológico a este estudio es fundamental pues nos permite evaluar la existencia o no de alteraciones estructurales así como efectuar comparaciones con las provocadas por la radiación gamma en la serie tratada exclusivamente con irradiación.

Pudiera darse el caso de que, sin influir en la supervivencia, el fármaco a valorar disminuyera las alteraciones provocadas por la radiación en uno o varios órganos; resultado que sería muy útil en clínica

radioterapéutica humana en la que en muchas ocasiones no existe posibilidad de proteger parcial o totalmente un órgano sano por su situación de vecindad inmediata al tejido tumoral.

Se estudiarán y valorarán las diferencias de afectación de los diversos órganos y sistemas con el empleo del litio como radioprotector .

C) CRITERIOS BIOQUIMICOS.

En nuestro país se han hecho públicos los resultados de varios trabajos en los que se ha estudiado la variación de los parámetros analíticos en ratas Wistar como indicadores de la afectación orgánica y de la futura mortalidad tras su irradiación corporal total (452) (480) (481) (482).

Se estudiará la influencia de la administración de litio en dichas variaciones y su correlación con la variación de la afectación orgánica y de la supervivencia posterior.

1.7.-JUSTIFICACION DEL TRABAJO.

Por lo general, cuanto mayor sea la dosis de radiación ionizante administrada a un tumor, mayor será el control tumoral obtenido. Sin embargo, la cantidad de radiación que podemos administrar está limitada por la tolerancia a la misma de los tejidos normales que se irradian al mismo tiempo. A pesar de que la relación cuantitativa entre las respuestas a la radiación de los dos tipos de tejidos, normal y tumoral, depende de una gran variedad de situaciones y condiciones clínicas, puede afirmarse que una mayor posibilidad de control tumoral estará asociada con un mayor porcentaje de complicaciones radioinducidas.

Por lo tanto, cualquier intento de mejorar la efectividad de la radioterapia debe llevar implícito el intentar conseguir una mayor radiosensibilidad tumoral e/o intentar reducir las complicaciones en los tejidos normales. Gran parte de los intentos efectuados para conseguir estos objetivos han sido objeto de la investigación radiobiológica, y una parte importante de éstas investigaciones se ha focalizado en el empleo de compuestos radioprotectores para intentar conseguir una reducción de los efectos secundarios del empleo de la radioterapia en los tejidos normales sin afectar la radiorespuesta tumoral (483).

Los resultados obtenidos con el ensayo de nuevos radioprotectores son de interés por su potencial aplicación en tratamientos radioterápicos ya que nos permitirían administrar una mayor dosis de radiaciones ionizantes al tejido tumoral mientras se brindaría protección a los tejidos sanos.

Se conseguiría, de este modo, por un lado aumentar las posibilidades de curación tumoral ya que las dosis de radioterapia que se pueden administrar están fuertemente condicionadas por la tolerancia a las radiaciones ionizantes tanto del tejido sano circundante al tumor como de los órganos vecinos en los que, a pesar de las cada día más depuradas técnicas de dosimetría empleadas por las secciones de radiofísica encargadas de realizar los cálculos dosimétricos de los tratamientos, no podemos evitar el depositar unas dosis de radiación que, por pequeñas que sean, no dejan de ser por ello innecesarias e indeseables.

Asimismo los resultados en la investigación sobre radioprotectores tienen una aplicación en su utilización en ambiente radiactivo provocado por accidentes como el producido en las islas Marshall, donde se produjo una lluvia radiactiva como consecuencia de un explosión nuclear experimental, o como el más reciente de la central nuclear de Chernobyl. El primero de ellos fué estudiado por Conard y cols. en 1965 (38) y el segundo fué analizado, entre otros, por Kraljevic en 1987 (484) y por Young en 1988 (43).

Su utilidad queda asimismo patente si consideramos a los trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes. Aunque se cumplan rigurosamente los límites anuales de dosis establecidos para ellos y no reciban exposiciones superiores, no es posible descartar que puedan producirse emergencias tanto médicas como técnicas que provoquen una sobreexposición y por tanto su empleo aportaría una mayor seguridad a ese personal.

Por otra parte no podemos olvidar que los límites de dosis vigentes en todo el mundo para los trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes se han elaborado de acuerdo al conocimiento existente en la actualidad sobre los efectos no estocásticos de la radiación (aquellos que aparecen con seguridad al recibir una dosis determinada).

Actualmente, por lo tanto, no podemos proteger en rigor de los efectos estocásticos (aquellos que no se conoce aún el umbral de dosis recibida que provocará su aparición) y la filosofía de actuación en Radioprotección se resume con las siglas ALARA (as low as reasonably achievable), es decir en mantener al profesional recibiendo una dosis de radiaciones ionizantes tan baja como sea razonablemente posible conseguirla.

Es de esperar que la aplicación de las investigaciones sobre radioprotectores permita algún día poder administrar a estos profesionales compuestos farmacológicos que con una toxicidad mínima o inexistente permita protegerlos tanto de los efectos estocásticos de las radiaciones ionizantes como minimizar en lo posible los efectos de posibles emergencias y accidentes, siempre que las dosis recibidas no fueran desmesuradamente elevadas.

En este contexto se inscribe este trabajo ya que en este campo de investigación como en muchos otros lo fundamental es proseguir los estudios. Si el resultado de una valoración bien planificada y estructurada de un fármaco posible radioprotector confirma la hipótesis es un resultado positivo, pero no deja de serlo si se descarta su uso ya que se evita que otros individuos o grupos de investigación empleen su tiempo y esfuerzos en ese tema y

lo puedan dedicar a otro que sí podría aportar algún resultado más esperanzador.

Evidentemente, una de las necesidades fundamentales para los experimentos de los efectos de la irradiación en el organismo de la rata wistar y posibilitar por tanto la realización de ensayos de fármacos radioprotectores es el conocimiento de la DL 50/30, o en su defecto de una dosis lo más cercana posible, para la radiación gamma del Co^{60} en las condiciones experimentales de los trabajos a realizar. En el presente estudio, esta necesidad ha obligado a efectuar una serie de cálculos para conocerla debido a la gran cantidad de factores que pueden modificarla.

La elección del litio como posible fármaco radioprotector metabólico está fundamentada en una serie de hechos demostrados y de consideraciones lógicas:

1) Los compuestos antioxidantes tienen capacidad de reparar el daño celular provocado por la radiación ionizante. Consecuentemente, al comportarse el litio como reductor podría, al menos teóricamente, tener capacidad radioprotectora.

2) Dentro de los radicales libres formados por la acción indirecta de las radiaciones ionizantes sobre el agua intracelular, el radical hidroxilo (OH^-) es uno de los máximos responsables de las lesiones producidas. La capacidad de los iones de litio para reaccionar con este radical formando hidróxido de litio hacen que ofrezca una posibilidad de neutralizarlos e impedirles que interaccionen con moléculas orgánicas lesionándolas.

3) Su capacidad demostrada para estimular la hematopoyesis en general y la leucopoyesis en particular.

4) La inexistencia de trabajos publicados en los que se valore su capacidad como radioprotector metabólico administrándolo inmediatamente antes de la irradiación con dosis letales 50/30. Hemos visto anteriormente que existe un único trabajo en la literatura, con administración de litio de forma crónica previa a la irradiación, que brindó unas expectativas esperanzadoras (477), aunque las dosis de irradiación corporal total administradas eran muy inferiores a la DL 50/30. Dicho trabajo data de 1982 y no existen otros posteriores en este sentido.

En cuanto a la elección de la vía intraperitoneal para la administración del compuesto se fundamenta en que la adicción de litio al agua de bebida en jaulas con más de un animal de experimentación haría imposible la cuantificación exacta por métodos no agresivos de los niveles del compuesto en sangre. Por otra parte está demostrado que las situaciones de estrés favorecen la acción lesiva de las radiaciones ionizantes y la alternativa a emplear en caso de la administración individualizada del litio por vía oral (sonda gástrica) resulta mucho más estresante para el animal de experimentación e implica bastantes más manipulaciones del mismo que una simple punción abdominal con una aguja de insulina.

2.- MATERIAL Y METODOS

<u>2.-MATERIAL Y METODOS</u>	149
2.1.-ANIMAL DE EXPERIMENTACION E IDENTIFICACION	151
2.2.-NUMERO DE ANIMALES Y SERIES	152
2.3.-METODOLOGIA RADIOTERAPICA	153
2.4.-METODOLOGIA PARA EL CALCULO DE LA DL50/30	161
2.5.-METODOLOGIA FARMACOLOGICA	167
2.6.-METODOLOGIA DEL SACRIFICIO DE LOS ANIMALES Y DE LA RECOGIDA DE SANGRE	170
2.7.-METODOLOGIA DE LAS DETERMINACIONES ANALITICAS Y BIOQUIMICAS	171
2.8.-METODOLOGIA DE LA DISECCION Y DEL PESAJE DE LOS ORGANOS	178
2.9.-METODOLOGIA HISTOLOGICA	187
2.10.-TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS	194
2.11.-METODOLOGIA PARA EVALUAR EL EFECTO RADIOPROTECTOR DEL LITIO	196
2.12.-TRATAMIENTO INFORMATICO UTILIZADO	198

2.- MATERIAL Y METODOS.

2.1. ANIMAL DE EXPERIMENTACION E IDENTIFICACION.

Como animal de experimentación se utilizaron ratas hembras de raza wistar, adultos jóvenes (entre 3 y 4 meses), cuyos pesos corporales estaban comprendidos entre un mínimo de 180 y un máximo de 400 gramos; oscilando la mayoría de ellos entre 230 y 320 gramos.

Las condiciones ambientales a las que estuvieron sometidos los animales, tanto durante su crecimiento como durante los días del período de observación, fueron: temperatura constante (25 grados centígrados), sin manipulaciones traumáticas (únicamente fueron pesadas semanalmente), alimentación estandar (dieta "Sanders-Mus"), bien hidratadas (bebida "ad libitum"), no sometidas a ejercicio físico ni a ruidos; en general se evitaron los factores que potenciaran externamente la susceptibilidad a la infección o favorecieran el stress.

Cada serie de 50 ratas se identificó mediante una letra. Además cada lote de la serie (jaula con 5 animales) se identificó con un sufijo numérico (del 1 al 10). Las ratas del mismo lote (las que pertenecían a la misma jaula) fueron identificadas mediante señales en los pabellones auriculares de la siguiente forma:

- Rata 1: Pabellones auriculares integros.
Rata 2: Corte parcial en pabellón auricular derecho.
Rata 3: Corte parcial en pabellón auricular izquierdo.
Rata 4: Cortes parciales en ambos pabellones auriculares.
Rata 5: Incisión en pabellón auricular derecho.

2.2. NUMERO DE ANIMALES Y SERIES.

Para efectuar este trabajo se dispuso de 500 animales de experimentación que fueron distribuidos en las siguientes series:

- A) 1 serie de 50 animales usada como grupo control para determinaciones analíticas, pesos de órganos y observaciones anatomopatológicas.
- B) 7 series de 50 animales cada una para el cálculo de la Dosis Letal 50/30, en nuestras condiciones de trabajo, de radiación gamma emitida por el Co^{60} para la rata Wistar.
- C) 1 serie de 50 animales que fueron sometidos a ICT con una dosis única, resultado del cálculo de la Dosis Letal 50/30, y sometidos a observación durante 30 días, al cabo de los cuales se efectuó el sacrificio de los supervivientes.
- D) 1 serie de 50 animales utilizados para efectuar los estudios encaminados a valorar la efectividad del litio como radioprotector metabólico. A los animales de esta serie se les administró, previamente a la ICT con el resultado del cálculo

de la DL 50/30, una dosis única de citrato de litio por vía intraperitoneal. La dosis administrada fué de 162 mg/Kg de peso del animal.

Los animales procedían del estabulario del Servicio de Cirugía Experimental, donde se administró el citrato de litio a la serie correspondiente. Fueron trasladadas al Servicio de Radioterapia donde fueron sometidas a ICT, retornando posteriormente al estabulario de procedencia durante todo el período de observación.

2.3. METODOLOGIA RADIOTERAPICA.

Se ha podido disponer de una unidad de Telecobaltoterapia Theratron 80, de la casa N.C.R., perteneciente al Servicio de Radioterapia para efectuar la ICT de los animales de experimentación (FIGURA 17).

La optimización de la ICT para clínica humana exige, para conseguir una irradiación homogénea, realizar el método de planificación del tratamiento de forma individual, dados los diferentes espesores de las distintas partes del cuerpo y, por lo tanto, de los distintos volúmenes a atravesar por el haz de radiación (485).

En el caso que nos ocupa no es necesaria esta dosimetría individual ya que, debido al pequeño espesor de los animales y a que no existen grandes variaciones de peso ni de dimensiones, los espesores a atravesar son muy pequeños y prácticamente todo el cuerpo del animal queda comprendido entre la curva de isodosis del 100 %.



FIGURA 17. Unidad de Telecobaltoterapia Theratron 80 con la que se efectuó la irradiación de los animales.

Se descartó irradiar a las ratas de forma individual mediante su colocación en un cilindro, método empleado por algunos autores anteriormente, como Bojtor y cols. (486) y Fariña (487) ya que las dificultades de planificación del tratamiento que tenían estos autores al emplear energías de 200 Kv no se daban en este caso al emplear una unidad de megavoltaje.

Para esta experiencia se construyó una jaula de metacrilato con 5 láminas de 28,5 x 26 cms. y de 0,5 cms. de espesor. En dos paredes verticales, laterales y opuestas, se practicaron unas perforaciones a fin de poder introducir por ellas unas varillas de metacrilato, que sirvieran de sujección a una sexta lámina que tenía la función de tapadera. Además éstas perforaciones permitían introducir otras varillas por encima de la sexta lámina que impedían que los animales pudieran levantarla empujando (FIGURA 18).

De esta forma se consiguió mantener confinados a los animales de experimentación en un espacio pequeño (en este caso en una altura de 7 cms.) de forma que todo el volumen de las ratas estaba incluido entre la lámina superior y la inferior sin existencia de interfase de aire, evitando de este modo en lo posible la radiación dispersa que se generaría (488) al ser atravesada por la radiación la lámina superior de metacrilato.

Para asegurar una perfecta respiración de los animales durante su irradiación, y evitar así la hipóxia que provocaría una menor destrucción celular y una menor afectación de la médula ósea (489), se practicaron abundantes orificios en las paredes laterales de la jaula.



FIGURA 18. Detalle de la jaula de metacrilato empleada para efectuar la ICT a los animales de experimentación.

Una vez confinadas las ratas en la jaula, y antes de proceder a su irradiación, se practicaron radiografías de simulación del tratamiento; reproduciendo así el procedimiento seguido en la clínica radioterápica habitual en humanos (FIGURAS 19 y 20).

Las distintas series de animales fueron irradiadas en el mismo momento del día ya que algunos autores, como Scheving y cols. (479) han sugerido que los ciclos circadianos conducen a variaciones en la radiosensibilidad dependiendo de la hora de irradiación. Para interferir lo menos posible en el normal funcionamiento del Servicio de Radioterapia, todas las series fueron sometidas a ICT a las 16 h., ya que a partir de las 15 h. no se trataban pacientes.

El cálculo del tiempo de irradiación se efectuó teniendo en cuenta los siguientes factores:

- 1.- Tasa de dosis de referencia actualizada: Es el rendimiento de la fuente de Co^{60} y por tanto de la unidad de teleterapia. Se obtiene del producto del valor de la tasa de dosis en el día de la calibración de la unidad por el factor de disminución de dosis que es función del tiempo transcurrido desde la última calibración efectuada hasta la irradiación y depende del periodo de semidesintegración del Co^{60} .
- 2.- Tiempo de irradiación efectivo: Es el tiempo real transcurrido desde que se pone en marcha el mecanismo que lleva y que retira la fuente desde el lugar de almacenamiento hasta el lugar donde emite radiación controlada.

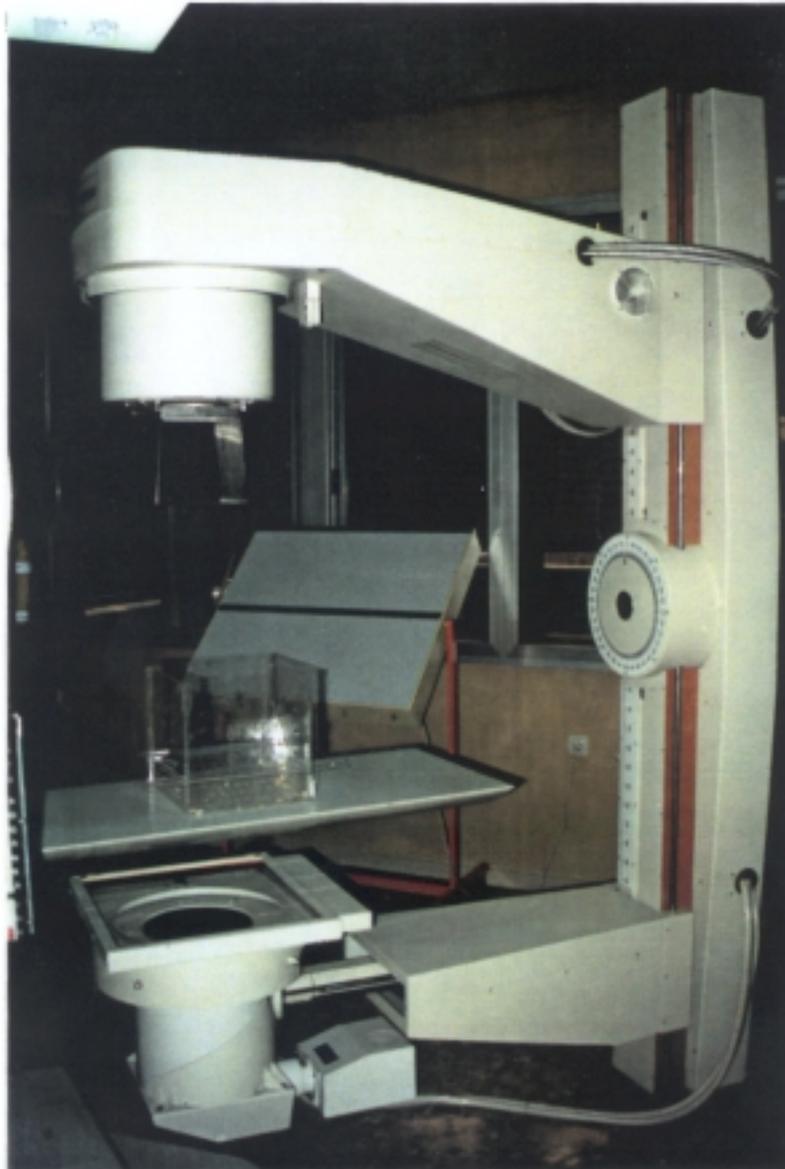


FIGURA 19. Simulador de tratamientos en Radioterapia modelo Verasim, CGR, con el que se realizó la Rx de simulación.

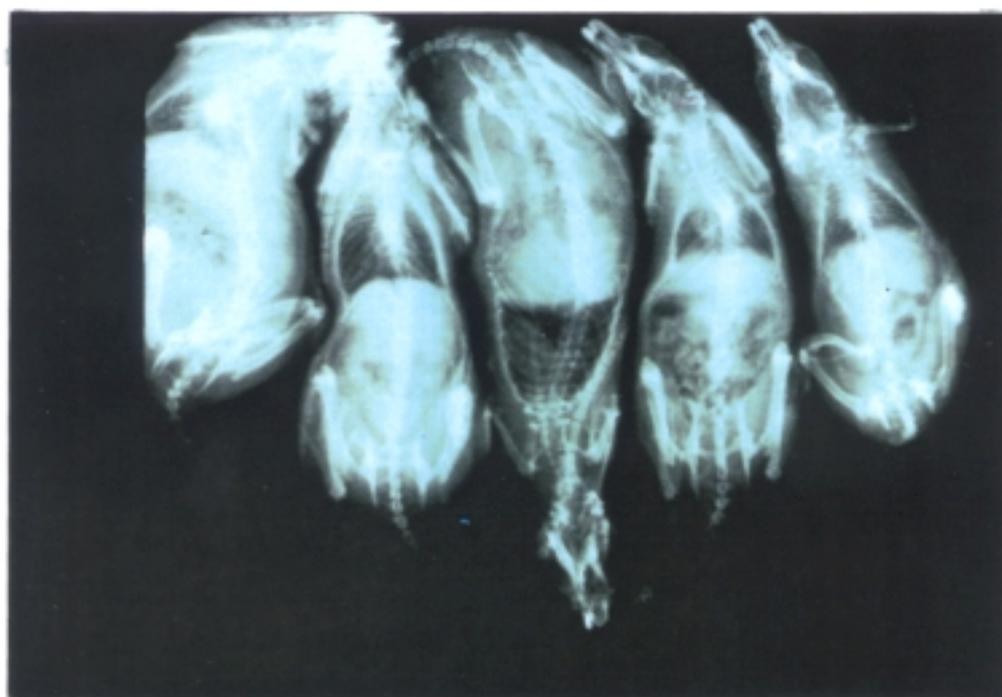


FIGURA 20. Radiografía de simulación efectuada a los animales de experimentación previa a la ICT.

- 3.- El factor de campo: Es el factor que relaciona la tasa de dosis de un campo de irradiación, en este caso de 28,5 x 26, con la tasa de dosis de referencia medida en un campo de 10 x 10 cms.
- 4.- El factor de atenuación de la lámina de metacrilato que tiene que atravesar el haz de radiación gamma. En este caso fué de 0,9654.
- 5.- La profundidad de tratamiento: Se decidió irradiar a los animales mediante dos campos paralelos y opuestos AP y PA para conseguir una distribución más homogénea de la dosis administrada. En este caso, al estar los animales confinados en un espesor de 7 cm., la profundidad de tratamiento fué de 3,5 cm.
- 6.- El rendimiento a la profundidad de tratamiento: Se obtiene a partir de las tablas de rendimiento en profundidad del BJR (17,1983). Se trata en definitiva de ver cual es el tanto por ciento de la energía, que libera la fuente, depositado en la profundidad que está la zona que se quiere irradiar. En este caso fué de 0,8792 Gy/minuto.
- 7.- El tamaño del campo se ajusta a una distancia fuente de radiación-superficie de 80 cm., ya que a esta distancia están comprobadas las curvas de rendimiento en profundidad.

Teniendo en cuenta todos los parámetros anteriores, y una vez efectuado los cálculos correspondientes, la tasa de dosis para un campo de 28,5 x 26 cm. y a una profundidad de tratamiento de 3,5 cm. resultó ser 40,745 cGy/minuto.

Las hojas del cálculo dosimétrico de la ICT para cada serie de animales se muestran en el Apéndice I, HOJAS 1 a 8.

2.4. METODOLOGIA PARA EL CALCULO DE LA DL50/30.

Si se quiere calcular la DL 50/30 para la radiación gamma, en nuestras condiciones de trabajo, de la rata wistar es necesario conocer la estructura de la curva de mortalidad de éste animal frente a dicha radiación en dichas condiciones.

Los cálculos de las dosis utilizadas en radioterapia se basan en modelos ajustados a mortalidad en cultivos celulares que se iniciaron hace 50 años y que han ido evolucionando. La primera ecuación que relacionaba el binomio dosis-tiempo con un determinado efecto biológico fué introducida por Strandquist (490). Posteriormente Von Essen (491) y Ellis (492) expusieron modelos diferentes para intentar relacionar dichos efectos.

En la actualidad los cálculos de la estructura de una curva de mortalidad se efectúan ajustándose generalmente a uno de los dos modelos siguientes: el modelo Lineal de Deeg (493), que es aplicable a animales completos, y el modelo Lineal-Cuadrático de Dale (494), aplicable tanto a animales completos como a cultivos celulares.

Este último se desarrolla a partir de la ecuación:

$$- \log (\text{fracción de supervivencia}) = \text{alfa}D + \text{beta}D^2$$

Ecuación que a su vez deriva de la hipótesis de Kellerer y Rossi (495) (496), donde Alfa cuantifica los efectos irreparables y Beta los reparables.

Según Alper (497), la mortalidad en animales no se ajusta al modelo cuadrático sino que sigue un modelo sigmoide. El conocimiento de la estructura de esta curva sigmoide es fundamental para el cálculo de dosis letales o semiletal en animales de experimentación y en el cálculo de FRD de compuestos radioprotectores.

A pesar de todo lo anterior no está claramente establecido un único modelo matemático para el cálculo de la DL 50/30 a partir de unos datos experimentales; probablemente debido a la gran complejidad que supone el que no solo dependa de la dosis administrada sino además de toda una cantidad de factores técnicos, individuales y ambientales.

Para el conocimiento de esta curva de mortalidad en nuestro animal de experimentación y el posterior cálculo de la DL 50/30, se estructuraron 7 series de 50 animales cada una subdivididas en lotes de 5. Cada una de las series fué sometida a ICT mediante dosis única y las dosis administradas fueron las siguientes:

- a) Serie 1a: 800 cGy.
- b) Serie 2a: 900 cGy.
- c) Serie 3a: 908 cGy.
- d) Serie 4a: 925 cGy.
- e) Serie 5a: 940 cGy.
- f) Serie 6a: 1000 cGy.
- g) Serie 7a: 1200 cGy.

Esta distribución de dosis se hizo atendiendo a los datos contradictorios existentes en la bibliografía sobre la DL 50/30 para la rata. Mientras unos autores como Latorre Travis (10) dan un valor de 900 cGy a dicha dosis, otros como Martín y cols. (478), realizando experimentos posteriores, postulan que la dosis de 900 cGy corresponde en realidad a la DL 10/30 para la rata wistar.

Con los resultados obtenidos se efectuara la representación gráfica de la mortalidad de la rata Wistar para la radiación gamma del Co^{60} en nuestras condiciones de trabajo.

Posteriormente a su irradiación los animales fueron sometidos a observación durante treinta días, al cabo de los cuales se efectuaron los cálculos del porcentaje de supervivencia de cada serie. Asimismo se efectuaron representaciones gráficas de la cronología de las muertes ocurridas en cada serie, de la mortalidad acumulativa en cada serie y de la mortalidad porcentual acumulativa en cada serie en relación con el tiempo transcurrido postirradiación. Además se efectuaron representaciones gráficas comparativas de todas las series.

A partir de los datos obtenidos en las series se intentó encontrar la DL 50/30 mediante interpolación siguiendo el método "Cubic Spline", ya que nuestros intentos de conseguirlo mediante el método de Deeg fueron infructuosos obteniendo valores ilógicos. Básicamente, el método "Cubic Spline", se trata de un procedimiento estadístico que permite construir una determinada curva cuando solo se conocen un número limitado de los puntos que la componen sustituyendo polinomios de alto grado y descomponiéndola en varios fragmentos de los que se calcula la pendiente mediante polinomios de menor grado. Posteriormente los fragmentos de curva se unen terminoterminalmente y se obtiene la curva entera.

Para ello se realizó un programa de ordenador basado en los expuestos en la obra "Numerical Methods for Engineers and Computer scientists" (498) traducidos desde el Lenguaje PASCAL al Lenguaje TOPSPEED (Módulo 2. Versión 2.0 DOS) de la casa comercial Jensen-Partner. Dicho programa denominado MODULE TESIS1, se expone y se comenta a continuación. Para distinguir los comentarios del programa propiamente dicho, aquellos se enmarcan entre (*..*).

MODULE TESIS1;

(*Módulo que realiza la aproximación por spline para un valor de la variable U. El segmento spline apropiado se determina por una búsqueda lineal. Los coeficientes para el interpolador se determinan mediante el procedimiento CUBIC_SPLINE. Trabajaremos en doble precisión; es decir los resultados podrán expresarse hasta en 32 dígitos significativos, aunque, para una mayor manejabilidad, definiremos solo 10 dígitos.*)

```

IMPORT IO,MATHLIB;
(*Declaramos un tipo vector como un vector de 7 elementos,
que es el número de puntos que poseemos en doble
precisión*)

TYPE VECTOR=ARRAY[1..7] OF LONGREAL;
VAR X,Y,Z,B,C,D:VECTOR;
    N,I:INTEGER;
    RESULTADO,P,Q,H,T,U:LONGREAL;
PROCEDURE CUBIC_SPLINE(N:INTEGER;B,Y:VECTOR;VAR Z:VECTOR);
VAR
    C,D,:VECTOR;
    I:INTEGER;
    T:LONGREAL;
PROCEDURE TRIDIAG(N:INTEGER;VAR A,B,C,D:VECTOR);
VAR
    MULT:LONGREAL;
    I:INTEGER;
BEGIN
    FOR I:=2 TO N DO
        MULT:=A[I-1]/D[I-1];
        D[I]:=D[I]-MULT*C[I-1];
        B[I]:=B[I]-MULT*B[I-1];
    END; (*FOR*) B[N]:=B[N]/D[N];
    FOR I:=N-1 TO 1 BY -1 DO
        B[I]:=(B[I]-C[I]*B[I+1])/D[I];
    END;(*FOR*)
END TRIDIAG;
BEGIN
    C[1]:=0.0;
    D[1]:=1.0;
    Z[1]:=0.0;
    FOR I:=2 TO N-1 DO
        D[I]:=2.0*(B[I+1]-B[I-1]);

```

```

    C[1]:=B[I+1]-B[I];
    T:=(Y[I+1]-Y[I])/C[I];
    Z[I]:=6.0*(T-(Y[I]-Y[I-1])/(B[I]-B[I-1]));
END; (*FOR*)
Z[N]:=0.0;
C[N-1]:=0.0;
D[N]:=1.0;
TRIDIAG(N,C,Z,C,D);
END CUBIC_SPLINE;
BEGIN
    U:=MATHLIB.Log(50.0);
    (*Es el punto que deseamos interpolar*)

    N:=7;
    (*Número de puntos que hemos obtenido experimentalmente*)
    (*X son los valores de la mortalidad en %. Y son los
    valores de las dosis administradas en Gy*)
    (*Puesto que el logaritmo de 0 es inexistente, damos a
    X[1] el valor del resultado más cercano a 0*)

    X[1]:=-500.0; Y[1]:=8.0;
    X[2]:=MATHLIB.Log(10.0); Y[2]:=9.0;
    X[3]:=MATHLIB.Log(40.0); Y[3]:=9.08;
    X[4]:=MATHLIB.Log(70.0); Y[4]:=9.28;
    X[5]:=MATHLIB.Log(80.0); Y[5]:=9.4;
    X[6]:=MATHLIB.Log(90.0); Y[6]:=10.0;
    X[6]:=MATHLIB.Log(100.0); Y[7]:=12.0;
    FOR I:=1 TO N DO
        Z[I]:=0.0;
    END; (*FOR*)
    CUBIC_SPLINE (N,X,Y,Z,);
    I:=N;
    REPEAT
        I:=I-1;
        T:=U-X[I];

```

```

UNTIL ((T>=0.0) OR (I=1));

H:=X[I+1]-X[I];
P:=T*(Z[I+1]-Z[I])/(6.0*H)+Z[I]/2.0;
RESULTADO:=Q*T+Y[I];
FOR I:=1 TO N DO
    IO.WrLngReal(Z[I],10,10);
    IO.WrLn();
END;(*FOR*)
IO.WrLngReal(RESULTADO,10,10);
END TESIS1.

```

2.5. METODOLOGIA FARMACOLOGICA.

Debido a que la posible acción radioprotectora del litio se efectuaría en su forma iónica y debido asimismo que, independientemente de la forma farmacológica de administración, la incorporación al medio intracelular es también en su forma iónica, se considera que tanto la actividad radioprotectora como sus efectos perjudiciales son esencialmente los mismos para cada una de las diferentes presentaciones farmacológicas, o sea; de las diferentes sales; teniendo en cuenta, claro está, las distintas concentraciones del metal según el tipo de sal que se utilice. Esta consideración permitió utilizar el dato de la Dosis Letal 50 (DL 50) del litio oral en ratas, descrito en la edición de 1989 de la obra Merck: An encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals. (466).

La DL 50, para administración única en ratas, de carbonato de litio (CO_3Li_2) es de 635,65 mg/kg

de peso del animal. Partiendo de este dato se dedujo la DL 50 para el citrato de litio, que es la presentación usada en este trabajo.

El litio tiene un peso atómico de 6,95. El peso molecular del CO_3Li_2 es de 73,89 y contiene 13,88 mg de Li iónico. El citrato de litio tetrahidratado (con cuatro moléculas de agua), que es su presentación habitual, tiene un peso molecular de 282 y contiene 2,82 mg de Li.

La cantidad de mgs. de litio para 1 Kg. de peso del animal de experimentación, que equivaldrá a la DL 50 es:

$$\text{DL del } \text{CO}_3\text{Li}_2 \text{ x mg de Li en } 73,89 \text{ mg de } \text{CO}_3\text{Li}_2$$

Peso Molecular del CO_3Li_2

$$(635,65 \times 13,9)$$

$$\text{-----} = 119,56 \text{ mg. de Litio.}$$

$$73,89$$

Podemos calcular que la cantidad de miligramos de citrato de litio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Li}_3\text{O}_7\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) que contienen una cantidad de litio igual a la DL 50 es:

$$\text{DL 50 de Li x Peso Molecular del Citrato de Litio}$$

$$\text{mg de Li en } 282 \text{ mg de Citrato de Litio}$$

$$\begin{array}{r} (119,56 \times 282) \\ \hline 20,8 \end{array} = 1.620,95 \text{ mg. de citrato de litio.}$$

Evidentemente la DL 50 no podía ser empleada para la evaluación de un efecto beneficioso por lo que se consideró que la décima parte de dicha dosis podría ser óptima, en primer lugar por estar lejos de producir efectos letales que pudieran sumarse a la mortalidad producida por las radiaciones ionizantes y, en segundo lugar, porque es suficientemente elevada para ser utilizable.

Por tanto, la dosis de citrato de litio que se administró a los animales fué de 162 mg. por Kg. de peso. Esta cantidad se disolvió en 1 ml. de agua, obteniéndose una concentración de litio de:

$1/10$ de la DL50 de Citr. de Li x N^o de at. de Li en molec. de Citr. de Li / Peso Molecular del Citr. de Li.

$$\begin{array}{r} (162 \times 3) \\ \hline 282 \end{array} = 1,72 \text{ mEq/ml.}$$

La preparación se llevó a cabo disolviendo el citrato de litio en agua bidestilada, esteril y apirógena. A continuación se pasó la disolución por papel de filtro para eliminar posibles partículas. Se practicó esterilización por filtración con filtro de 0,22 micras y posteriormente se envasó en viales estériles.

Para establecer un control de calidad se realizó una dilución 1/1.000 y se determinó, mediante fotómetro de llama, el litio ionizado presente en la muestra (el litio metal se puede considerar prácticamente despreciable), comprobándose que la preparación se ajustaba al control y que, por lo tanto estaba lista para su utilización.

Teniendo en cuenta que la vida media del citrato de litio es de unas 24 horas y que los niveles más elevados en suero después de una administración única se consiguen entre las 0,5 y las 3 horas después de su administración (463) (464) (465), se decidió efectuar la administración a los animales 1,5 horas antes de someterlos a ICT.

La administración se realizó mediante inyección intraperitoneal en la pared anterior del abdomen, tras la inmovilización del animal y cogiendo un pliegue de la piel para dirigir la aguja.

2.6. METODOLOGIA DEL SACRIFICIO Y DE LA RECOGIDA DE SANGRE.

Una vez transcurrido el período de observación postirradiación de 30 días se procedió al sacrificio de los animales supervivientes y a la extracción de su sangre.

Se inició el proceso realizando inducción a la anestesia de los animales introduciéndolos

individualmente en un recipiente que contenía algodón embebido en eter (FIGURA 21). Posteriormente, se aplicó a cada animal anestesia mediante mascarilla con eter (FIGURA 22) hasta el total adormecimiento y pérdida de tono muscular. En el momento del sacrificio, y continuando la anestesia, se procedió a efectuar punción intracardíaca mediante aguja y jeringuilla de 20 cc. para la extracción de la mayor cantidad de sangre posible (FIGURA 23).

Los animales morían por parada cardíaca y de una forma totalmente indolora puesto que persistía la anestesia.

Los animales que murieron durante el período de observación fueron congelados para proceder, posteriormente a su necropsia. En estos casos, evidentemente, se perdieron los datos analíticos.

2.7. METODOLOGIA DE LAS DETERMINACIONES ANALITICAS Y BIOQUIMICAS.

Una vez realizada la extracción de la sangre de un animal, se introducía una pequeña cantidad de la misma en un tubo de ensayo que contenía EDTA tripotásico y se movía el tubo para que toda la sangre entrara en contacto con él y evitar así su coagulación. Este primer tubo se destinaba a la determinación del recuento sanguíneo y de la fórmula leucocitaria.

El resto de la sangre extraída se introdujo en otro tubo de ensayo que se tapaba y se dejaba enfriar a



FIGURA 21. Inducción a la anestesia de un animal de experimentación.



FIGURA 22. Anestesia con mascarilla de eter.

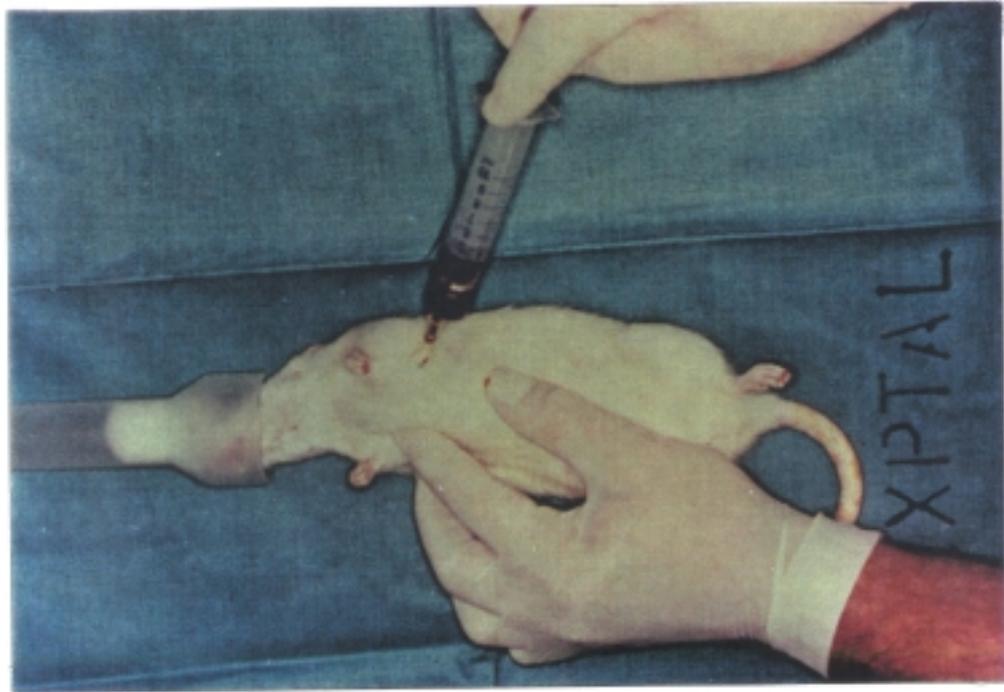


FIGURA 23. Extracción de sangre mediante punción intracardíaca.

temperatura ambiente entre 5-10 minutos. Posteriormente se procedía a la centrifugación de la sangre con la siguiente pauta: 5 minutos a baja velocidad (500 revoluciones/minuto) y 5 minutos a alta velocidad (2.000 revoluciones/minuto).

El suero así obtenido se repartía en dos tubos de ensayo. Uno destinado a determinaciones hormonales que se efectuaron en el laboratorio del Servicio de Medicina Nuclear (conteniendo de 1 a 1,5 cc. de suero) y otro para determinaciones bioquímicas que se efectuaron en el laboratorio general del servicio de Análisis Clínicos (conteniendo de 2,5 a 3 cc. de suero). Los tres tubos de ensayo eran remitidos, pues, a dichos laboratorios para efectuar las determinaciones analíticas correspondientes.

El tubo de ensayo destinado al laboratorio de Medicina Nuclear era congelado a su llegada hasta -20°C hasta reunir el número suficiente para hacer rentable la aplicación de los reactivos correspondientes.

En algunas ocasiones no se han conseguido todos los parámetros analíticos de una misma rata debido a la dificultad que entraña la extracción de la cantidad suficiente de sangre. De todas formas, se ha procurado que el número de valores para cada parámetro analizado fuera el suficiente para que dicho análisis tuviera la mayor fiabilidad estadística posible.

Las determinaciones realizadas, incluyendo sus abreviaturas y sus unidades de medida, fueron:

a) Recuento y Fórmula.

- Recuento:

- .Hematíes (RBC), en millones/mm³ (por 100).
- .Leucocitos (WBC), en miles/mm³ (por 10).
- .Hemoglobina (HB), en grs/100 cc. (por 10).
- .Hematocrito (HCT), en % (por 10).
- .Volumen Corpuscular Medio (MCV), en micras³ (por 10).
- .Hemoglobina Corpuscular Media (MCH), en pg (por 10).
- .Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (MCHC), en % (por 10).

- Fórmula Leucocitaria:

- .Segmentados (SEG), en %.
- .Linfocitos (LYMPH), en %.
- .Monocitos (MONO), en %.
- .Eosinófilos (EOSIN), en %.
- .Basófilos (BASO), en %.

b) SMAC.

- Albúmina (ALB), en gr/dl (por 10).
- Bilirrubina Total (TBIL), en mg/dl (por 10).
- Calcio (CA), en mg/dl (por 10).
- Colesterol (CHOL), en mg/dl.
- Creatín Fosfo-kinasa (CPK), en U/l.
- Creatinina (CREA), en mg/dl. (por 10).
- Glucosa (GLU), en mg/dl.
- Gamma-Glutamil-Transpeptidasa (GGT), en U/l.
- Glutámico Oxalacético transaminasa del suero (SGOT), en U/l.

- Glutámico Pirúvico transminasa del suero (SGPT), en U/l.
- Hierro (IRON), en mcg/dl.
- Lactato Deshidrogenasa (LDH), en U/l.
- Fosfatasa Alcalina (AP), en U/l.
- Fosfatos (PO4), en mg/dl. (por 10).
- Potasio (K), en mEq/l. (por 10).
- Sodio (NA), en mEq/l.
- Proteinas Totales (PRO), en g/l.
- Triglicéridos (TRIG), en mg/dl.
- Urea (BUN), en mg/dl.
- Acido Urico (UA), en mg/dl.(por 10).
- Litio (LIT), en mEq/l. (por 10).

c) Determinaciones Hormonales. Fueron realizadas empleando técnicas de radioinmunoanálisis en el Servicio de Medicina Nuclear.

- Triiodotironina (T3), en ng/ml (por 100).
- Tetraiodotironina o Tiroxina (T4), en ng/ml (por 100).
- T4 libre (T4L), en ng/dl (por 100).
- Inmunoglobulina Estimuladora del Tiroides (TSI), en U/ml.
- Cortisona (CORT), en ng/ml.
- Aldosterona (ALD), en ng/ml.
- Insulina (INS), en mU/ml.

2.8. METODOLOGIA DE LA DISECCION Y DEL PESAJE DE LOS ORGANOS.

Para la realización de las disecciones de los animales de experimentación fueron utilizados los siguientes materiales e instrumental quirúrgico (FIGURA 24):

- Bandeja para colocación del animal.
- Esparadrapo para efectuar la sujeción del animal a la bandeja de disección.
- Bisturí.
- Sierra de metal para la apertura de la cavidad craneal.
- Tijera curva de mediano tamaño para cortar tejidos blandos.
- Tijera de microcirugía para efectuar cortes de precisión en tejidos blandos.
- Tijeras de microcirugía, de punta roma, para la apertura del tubo digestivo.
- Pinzas grandes para la disección general.
- Pinzas de microcirugía para disecar vísceras y tejidos blandos.
- Tenaza para realizar la apertura del canal espinal.
- Batea pequeña (1/2 l. de capacidad) llena de suero fisiológico para lavado.
- Frascos de plástico para la colocación de los paquetes viscerales.

Para realizar las disecciones se siguió el método descrito por Baker y cols. (499).

En primer lugar se efectuó una incisión abriendo la piel y la musculatura de los rectos del



FIGURA 24. Instrumental utilizado para la disección de los animales de experimentación.

abdomen continuando con la incisión y apertura de la caja torácica por el esternón (FIGURA 25). Posteriormente se introdujeron los animales en aldehído fórmico al 10 % para la determinación posterior del estado macroscópico y del peso de los órganos.

Después de 48 horas se practicó un corte a nivel de la laringe supraglótica y se realizó la desinserción digital del paquete visceral toracoabdominal, desinsertando el diafragma.

A nivel inferior se seccionaron recto, vagina y uretra y se separaron las uniones de las distintas vísceras a la cavidad abdominal. También se liberaron las vísceras retroperitoneales y posteriormente se efectuó un lavado de todo el paquete visceral con suero.

Se prosiguió la disección con la siguiente sistemática:

1) Glándulas suprarrenales: Se encontraban entre la grasa retroperitoneal, en los polos renales anteriores. Su consistencia era dura al tacto, su color pardo-rojizo, fácilmente extraíbles y de forma redondeada. Se limpiaban de grasa con las pinzas de microcirugía.

2) Glándulas tiroideas: Se liberaron cortando los ligamentos superior e inferior, separando cuidadosamente con el lado romo del bisturí la glándula con forma de pirámide triangular y color rojo-sonrosado. Mediante tracción se terminaba de liberar.

3) Tráquea y Pulmones: Se separaban del esófago, del timo y del corazón. Para separar el esófago se cortó la unión

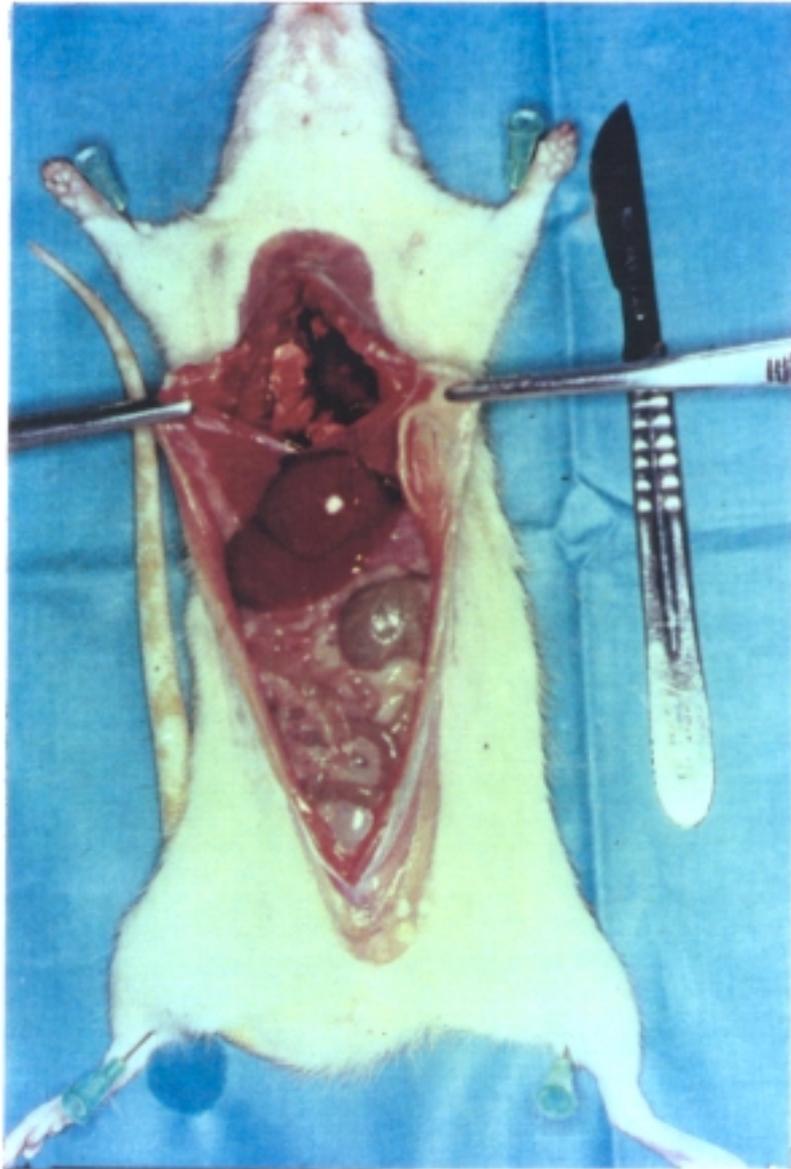


FIGURA 25. Animal de experimentación una vez efectuada la apertura de cavidades

entre ambos y se traccionó progresivamente. Con el bisturí se separaron el timo y el corazón, eliminando los coágulos que pudieran existir originados por la punción intracardiaca efectuada previamente a la disección.

4) Hígado: Se liberó primero el lóbulo hepático caudal adyacente a estómago y se separó todo el hígado practicando un corte a nivel de su hilio.

5) Esófago y Estómago: Se cortó el esófago a nivel del cardias para aislarlo del estómago. El esófago se ha incluido en el apartado de resultados dentro de la cavidad abdominal, correlacionándolo con las otras vísceras digestivas. El estómago se cortó a nivel del píloro y se realizó su apertura siguiendo la curvatura mayor para extraer el contenido gástrico y proceder a su lavado.

6) Intestino: Se aisló un trozo de intestino delgado de unos 3 cm. de longitud, procurando incluir placas de Peyer.

7) Apéndice: Se aisló el apéndice cecal y se abrió longitudinalmente.

8) Riñones: Se liberaron cortando los vasos y la pelvis renal, eliminando la grasa perirrenal y obteniendo ambos riñones con su cápsula propia.

9) Páncreas: Se aisló de su lecho duodeno-peritoneal. Su aspecto era aplanado, ondulado y de color blanco-rosáceo.

10) Bazo: Se cortaron los vasos del hilio quedando de esta forma liberado. Presentó color rojo oscuro y forma alargada.

11) Utero y Ovarios: Se liberaron los cuernos uterinos de su mesosalpinx y se realizó incisión a nivel vaginal. Se limpiaron los cuernos uterinos eliminando la grasa. En los extremos de dichos cuernos uterinos, y sin solución de continuidad, se encontraban los ovarios que se limpiaron del tejido graso que los envolvía y se aislaron.

12) Piel: Se depiló la piel de la zona lumbar para la extracción de un trozo de 1 cm², con tónicas musculares subyacentes.

13) Músculo estriado: Se tomó una porción de músculo estriado de la zona del muslo.

14) Hueso: Se practicó desarticulación proximal y distal del femur, eliminando las inserciones musculares y ligamentosas para liberar completamente el hueso y proceder posteriormente a su descalcificación.

15) Gándulas lacrimales: Para extraerlas se introdujo una pinza fina por la bóveda ósea hasta el polo posterior. Se extrajo conjuntamente la glándula lacrimal intraorbital, con el globo ocular y los músculos accesorios extrínsecos. Posteriormente se aisló el globo ocular del resto de los tejidos unidos a él y se procedió a la disección de las glándulas lacrimales. El color de dichas glándulas fué sonrosado y su aspecto lobulado. Tras la fijación en formol aparecía una opacificación cristalina que se observaba a través de la córnea. La glándula lacrimal extraorbital se encontraba ubicada debajo del pabellón auricular. Se extrajo mediante separación de la piel y liberación de aponeurosis y músculo. Presentando color beige y forma elipsoide y plana.

16) Glándulas salivales, submaxilar y sublingual mayor: Se procedió a la disección de los ganglios linfáticos y de las aponeurosis musculares. Presentaban color beige y forma globulosa.

17) Encéfalo: Para su extracción se serraron los huesos frontal y nasal. Una vez separada la calota, se levantaba el encéfalo por delante cortando las inervaciones de su base hasta llegar a la tienda del cerebelo que es ósea y se separó de la caja craneana. Se efectuó sección medular en zona inmediatamente caudal al bulbo.

18) Hipófisis: Al extraer el encéfalo quedaba adherida a la silla turca. Se cortaron las meninges que la cubrían y se extrajo. De forma poligonal y de color rosa oscuro.

19) Médula espinal: Se separó la piel y musculatura de la región cervical y se desarticularon las articulaciones costovertebrales a dicho nivel. Se disecó el canal vertebral mediante una tijera, procediendo posteriormente a la apertura del canal medular y al aislamiento de la médula.

Al finalizar la extracción se pesaron los órganos con balanza de precisión marca Sartorius, modelo 1405, que brinda una precisión de 0,001 gr. (FIGURA 26), y se clasificaron atendiendo a la cavidad de la que se obtuvieron. Las abreviaturas correspondientes utilizadas para los distintos órganos pesados han sido las siguientes:

- Cabeza y cuello:

Encéfalo (ENC).

Glandulas lacrimales (GLL) añadiendo 1 o 2 según

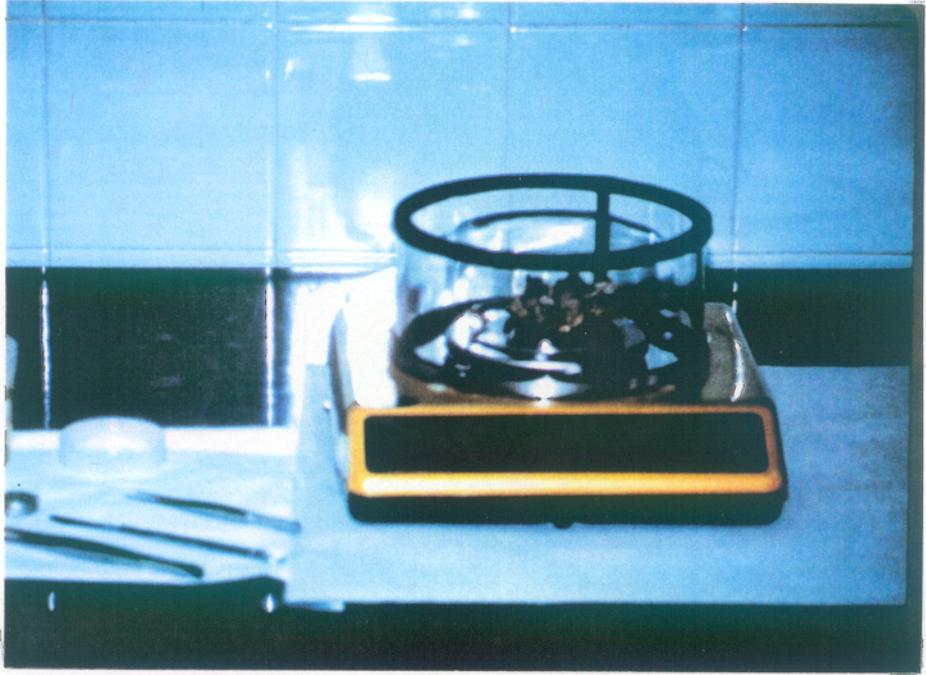


FIGURA 26. Balanza de precisión utilizada en el pesaje de los órganos.

sea la primera disecada o la segunda (GLL1 y GLL2).

Hipófisis (HIP).

Glándulas salivales, en conjunto (GLS).

Tiroides, cada lado (TIR1 y TIR2).

- Torax:

Traquea y Pulmones (TRP).

Corazón (COR).

Timo (TIM).

- Abdomen:

Estómago (EST).

Páncreas (PAN).

Bazo (BAZ).

Hígado (HIG).

Riñones (RIN1 y RIN2).

Gándulas suprarrenales (CAS1 y CAS2).

Utero y vejiga conjuntamente (UTV).

- Otros:

Femur (FEM).

No se efectúa el pesaje de los órganos siguientes por no ser objeto de comparación estadística:

- Ojos.

- Esófago.

- Médula espinal.

- Intestino delgado.

- Intestino grueso (apéndice cecal).

- Piel y músculo estriado.

2.9. METODOLOGIA HISTOLOGICA.

Para el estudio de las piezas mediante microscopía óptica se efectuaron los siguientes procesos previos:

- 1) Tallado de las piezas.
- 2) Inclusión en parafina.
- 3) Realización de cortes histológicos con un espesor de 3 micras mediante un microtomo rotatorio.
- 4) Desparafinación y mantenimiento en estufa a 100° C durante 30 minutos.

A continuación se utilizaron las siguientes técnicas de tinción:

A) Técnica de tinción con HEMATOXILINA-EOSINA.

-Reactivos:

.Hematoxilina de Harris:

- Hematoxilina (5 grs.).
- Alcohol absoluto (50 ml.).
- Agua destilada (1.000 ml.).
- Oxido de mercurio (2,5 grs.).
- Alumbre potásico (100 grs.).

.Eosina:

- Eosina (1 gr.).
- Agua destilada (100 ml.).

-Bateria:

- .3 pases por Xilol (3 cubetas).
- .2 pases por Alcohol de 100 grados (2 cubetas).
- .2 pases por Alcohol de 96 grados (2 cubetas).
- .Lavado en agua corriente durante 2 minutos.

-Técnica:

- .Tinción con hematoxilina (de 3 a 5 min.).
- .Lavado en agua corriente durante 2 min.
- .Tinción con eosina (1/2 min.). Si no tiñe mucho se le agrega 1 gota de Acido Acético para que tiña lo necesario.
- .Deshidratación:
 - 2 pases por alcohol de 96 grados (2 cubetas).
 - 2 pases por alcohol de 100 grados (2 cubetas).
 - 3 pases por xilol (3 cubetas).
- .Montaje con bálsamo (EUKIT).

B)Técnica de tinción con GIEMSA. Se utilizó para tejidos hematopoyéticos y linfoides.

-Reactivos:

- .Solución Giemsa:
 - Giemsa Merck (20 ml.).
 - Agua destilada (80 ml.).
- .100 ml. de agua destilada con 2 o 3 gotas de ácido acético glacial.
- .Alcohol isopropílico.

-Técnica:

- .Desparafinar e introducir en agua destilada.
- .Colocar en la solución de Giemsa diluida durante 1 hora.
- .Se sacan los cortes de la solución de Giemsa y se ponen en la solución de ácido acético en agua durante unos segundos.
- .Se pasan directamente por alcohol de 96º dejándolos hasta obtener el color deseado y se controla después al microscopio óptico.
- .Se para la diferenciación sumergiéndolos en isopropanol 3 veces, 2 minutos cada vez.
- .Se pasan por Xilol 3 veces.
- .Se montan en Eukitt.

-Giemsa para piezas normales:

- .Solución de Giemsa: Por cada cc. de agua añadir 1 gota de Giemsa.

.Técnica:

Desparafinar e hidratar.

Si la pieza proviene de Zenker pasar por lugol e hiposulfito.

Poner los cortes en la solución de Giemsa durante 1/2 hora.

Deshidratar y montar.

-Giemsa para médulas óseas:

- .Solución de Giemsa: Para 9 cc. de agua añadir 1 cc. de Giemsa.

.Técnica:

Los dos primeros pasos iguales que en la anterior.

Dejar los cortes durante 9 m. en solución de

Giemsa.

Lavar en agua.

Deshidratar y montar.

C) Técnica de tinción con P.A.S. (PERYODICO ACIDO DE SCHIFF).

-Reactivos:

.Solución de Alcian Blue: pH=2,5.

Alcian Blue (0,5 gr.).

Acido acético al 3 % (100 ml.).

.Acido peryódico al 0,5 %.

.Sulfuro de Ruissens o bisulfito sódico al 2 %.

Metabisulfito sódico al 10 % (6 ml.).

ClH normal (5 ml.):

ClH (8,4 ml.).

Agua destilada (hasta 100 ml.).

Agua destilada (100 ml.).

.Reactivo de Schiff:

Pararosaniline Hydrochloride (1 gr.).

Bisulfito sódico anhidro (1 gr.).

ClH normal (20 ml.).

Agua destilada (200 ml.).

Hervir 200 ml. de agua destilada, añadir con cuidado la pararosaniline, y disolver. Enfriar hasta 50° C, añadir el bisulfito sódico y agitar muy bien. Volver a enfriar hasta 25° C y agregarle el ácido clorhídrico normal; agitar bien. Guardar en la oscuridad en frascos ambar; si al día siguiente la solución no está completamente transparente, agregarle carbón activo y filtrarlo; si aún así no queda transparente, la solución no sirve.

-Técnica:

- .Hidratar los cortes.
- .Acido peryódico al 0,5 % durante 10 minutos.
- .Lavar durante 10 minutos.
- .Reactivo de Schiff, de 15 a 30 minutos.
- .Sin lavar se coloca el bisulfito sódico o sulfuro de Ruissens durante 10 minutos.
- .Lavar y contrastar con hematoxilina.
- .Lavar, deshidratar y montar.

-Resultados:

La tinción P.A.S. es el mejor colorante de mucopolisacáridos ácidos, con ella se muestran los hidratos de carbono en púrpura, los núcleos en azul, los citoplasmas amarillos y las membranas basales en púrpura más rojizo.

D) Técnica de tinción TRICOMICA DE MASSON.

-Reactivos:

- .Sulfato amonio-férrico al 5 % (sal ácida de alumbre férrico).
- .Hematoxilina de Weigert (sol. "A" más "B").
- .Solución de ácido pícrico:
 - Acido pícrico a saturación en alcohol de 96º (2 partes).
 - Alcohol de 96º 1 parte).
- .Solución de fucsina ácida-acético, sol. "A":
 - Fucsina ácida (1 gr.).

- Acido acético glacial (1 ml.).
- Agua destilada (100 ml.).
- .Solución de Ponceau-Xilidina, sol. "B":
 - Ponceau-Xilidina (1 gr.).
 - Acido acético glacial (1 ml.).
 - Agua destilada (100 ml.).
- .Se mezcla una parte de solución de fucsina y 2 partes de xilidina.
- .Acido fosfomolibdico al 1%.
- .Solución Verde Luz (Gurr's):
 - Verde Luz (1 gr.).
 - Acido acético glacial (1 ml.).
 - Agua destilada (100 ml.).
- Se puede reemplazar por ácido acético al 25 % y azul de anilina hasta la saturación.

-Técnica:

- .Hidratar los cortes.
- .Alumbre férrico a 60° C, durante 20 a 30 minutos.
- .Agua destilada. Lavar muy bien.
- .Hematoxilina de Weigert, durante 4 minutos.
- .Lavar muy bien.
- .Diferenciar con ácido pícrico hasta que solo los núcleos estén teñidos y los glóbulos rojos hayan perdido la coloración, 10 minutos.
- .Lavar muy bien durante 10 minutos hasta que no salga más ácido pícrico.
- .Teñir los citoplasmas con solución "A" más "B" de fucsina-xilidina durante 5 minutos.
- .Lavar en agua.
- .Diferenciar en fosfomolibdico que decolora las colágenas, tiñe glóbulos rojos y citoplasmas; duración 5 minutos.

.Sin lavar, teñir la colágena con Verde Luz,
10 minutos.

.Deshidratar y montar.

-Resultados:

Tejido conjuntivo y moco en verde o azulado, músculos en rosa, citoplasmas en naranja o rojizos, necrosis fibrinoide naranja y núcleos en pardo.

Además para descalcificar el tejido óseo se utilizó la siguiente técnica de descalcificación:

A) Se coloca en una solución al 7,5 % de ácido nítrico puro al 100 %. La mezcla consta de 75 cc. de ácido nítrico y el resto, hasta completar un litro, de formol (formaldehído al 10 % en agua).

B) Otro producto utilizado ha sido el "Surgipath decalcifier II", que consiste en ácido clorhídrico y un agente quelante para descalcificación histológica rápida y eliminación de especímenes mineralizados, suministrado por Surgical Medical Industries, Inc..

Diariamente se comprobó la resistencia de los huesos para conseguir la mejor descalcificación posible sin que por ello se llegara a destruir la imagen tisular. Finalmente se incluyeron en parafina.

Todos los órganos descritos se estudiaron histológicamente con un microscopio marca Nikon HFX-II A, equipado con una cámara, marca Nikon Optifot FX 35-VA, con la que se realizaron fotografías de las preparaciones. Se observaron aisladamente el cerebro y el cerebelo. En un

principio se pensó estudiar también la lengua y los dientes, pero finalmente se descartaron por no ser éstos, órganos donde se presente una sintomatología florida y nos permitan hacer comparaciones satisfactorias.

2.10. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS.

A) ESTADISTICA DESCRIPTIVA. Con los datos experimentales obtenidos, se obtuvieron los siguientes valores:

- Máximo (MAX): Es el valor más alto de un parámetro dado, en todas las ratas de una serie.
- Mínimo (MIN): Es el valor más bajo.
- Rango (RANG): Es la diferencia entre el máximo y el mínimo.
- N (N): Es el número de elementos de la muestra.
- Media muestral (MED): Es el estimador puntual de la media poblacional, consistente, centrado e insesgado. Se define como:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N}$$

- Desviación típica muestral (STD): Es la raíz cuadrada del cuadrado medio de las desviaciones a la media.
- Varianza muestral (VAR): Es el cuadrado de la desviación típica.

- Varianza poblacional: Es la varianza de una población infinita de la cual hemos extraído esta muestra. Se estima como el cuadrado de la cuasidesviación típica.
- Cuasidesviación típica (CUASTD): Es el estimador puntual, insesgado, consistente y centrado de la desviación típica poblacional. Se define como:

$$\hat{S} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

B) ESTADISTICA COMPARATIVA.

-Contraste de hipótesis para la igualdad de medias poblacionales: Se realiza comparando el valor de una variable que incluye la diferencia de medias muestrales y se distribuye según una distribución "t" de Student, con el valor de la significancia. "t" se calcula como:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

-El valor de "P" se calcula como el valor de la abcisa en una distribución "t" de "f" grados de libertad que deja un área en "alfa" en su cola (alfa=0,05). Este estimador "alfa" es el habitualmente usado en bioestadística.

-Contraste de hipótesis para las varianzas. Se compara la razón de las cuasivarianzas, que se distribuye

según una F de Fisher-Snedecor, con un valor de "P" obtenido como:

$$F_{\alpha} \begin{matrix} m_1 - 1 \\ m_2 - 2 \end{matrix}$$

Se han practicado contrastes de hipótesis de la serie radiada con el resultado del cálculo de la DL 50/30.

La obtención del parámetro P ("alfa"), como indicador de significación de una curva de distribución, que incluía un nivel de confianza del 95 % en la estimación, se consigue a partir de tablas estandar, con los valores P(t) y P(F).

2.11. METODOLOGIA PARA LA EVALUACION DEL EFECTO RADIOPROTECTOR DEL LITIO.

En 1988, J. R. Maisin, perteneciente al Departamento de Biología del Centro de Estudios de la Energía Nuclear belga, publicó un trabajo (451) que trataba sobre la evaluación del efecto radioprotector de distintas combinaciones de radioprotectores. En dicho trabajo, se efectuaba una revisión de los métodos empleados por diversos autores para evaluar la eficacia de un supuesto radioprotector.

Estos posibles métodos evaluativos son los siguientes:

- a) Mortalidad aguda a los 30 días postirradiación (500).
- b) Cambios metabólicos y estructurales (501) (502).
- c) Supervivencia a largo plazo (503).
- d) Causas de muerte (504).
- e) Síndrome gastrointestinal (505).
- f) Síndrome de la médula ósea (506) (507).
- g) Respuesta inmunitaria humoral (508).
- h) Fertilidad (509).
- i) Lesiones pulmonares (510).
- j) Efectos en células cancerosas (511).

En el presente trabajo se efectuará la evaluación del litio como radioprotector siguiendo la metodología que se expone a continuación:

a) En primer lugar se valorará la influencia en la mortalidad aguda y la media de la mortalidad a los 30 días postirradiación comparando una serie sometida a ICT con la dosis de radiación calculada previamente como equivalente a la DL 50/30 en la rata wistar, en nuestras condiciones de trabajo, con otra serie a la que previamente a la irradiación se le administrará litio en dosis única por vía intraperitoneal. Se pretende evaluar si la administración de una dosis única de litio intraperitoneal previa a la ICT tiene influencia en la supervivencia de los animales de experimentación.

b) En segundo lugar se enumerarán y compararán entre si los resultados analíticos bioquímicos y hormonales. Se pretende evaluar si la administración de litio

intraperitoneal modifica dichos parámetros.

c) En tercer lugar se efectuará estudio histológico y anatomopatológico de ambas series, describiendo las alteraciones aparecidas en cada una de ellas y comparándolas entre sí. Se pretende evaluar si la administración de litio intraperitoneal tiene influencia en las alteraciones tisulares y orgánicas que aparecen tras la ICT de los animales de experimentación.

2.12. TRATAMIENTO INFORMÁTICO UTILIZADO.

Se ha utilizado el paquete integrado Symphony (512) que ha brindado dos posibilidades de utilización distintas.

En primer lugar el empleo del tratamiento de textos ha permitido la redacción de la tesis en su totalidad y efectuar todas las correcciones necesarias. En segundo lugar la hoja electrónica ha permitido el tratamiento de datos numéricos y la realización de los cálculos estadísticos.

En dicha hoja electrónica se han introducido los valores de las variables cuantitativas pertenecientes a los valores de analíticas y pesos de vísceras, manejando un eje de abscisas con todos los títulos de cada uno de los parámetros, y un eje de ordenadas conteniendo la numeración correlativa de los animales de cada una de las tres series a las que se efectuaron dichas determinaciones.

Asimismo, en el eje de abcisas se han incorporado las funciones predefinidas en el paquete integrado para tratamientos estadísticos y con los resultados así obtenidos se han contrastado las significancias obtenidas para cada uno de los parámetros.

Los gráficos de mortalidad de todas las series, individuales y comparativos han sido confeccionados con el programa Harvard Graphics (513).

Además, y como ya se ha descrito anteriormente, se confeccionó un programa informático para el cálculo de la DL 50/30 mediante extrapolación por el método "Cubic Spline" (498).

También se efectuó un estudio comparativo entre la curva de mortalidad de la Serie sometida a ICT con la DL 50/30 calculada para nuestras condiciones de trabajo y la curva de mortalidad de la Serie sometida a ICT con dicha dosis posteriormente a la administración de una dosis única de litio intraperitoneal.

Ambas curvas se representarán mediante el método de Kaplan-Meyer (514) y el estudio comparativo de las mismas se efectuará usando el Test de Log-Rank (515).

Ambos procesos se realizarán mediante el empleo del programa informático estadístico SAS (516).

3.- RESULTADOS

<u>3.-RESULTADOS</u>	200
3.1.-SUPERVIVENCIA DE LAS SERIES USADAS PARA EL CALCULO DE LA DL 50/30 ...	202
3.1.1.SERIE SOMETIDA A ICT CON 800 cGy	202
3.1.2.SERIE SOMETIDA A ICT CON 900 cGy	202
3.1.3.SERIE SOMETIDA A ICT CON 908 cGy	203
3.1.4.SERIE SOMETIDA A ICT CON 928 cGy	203
3.1.5.SERIE SOMETIDA A ICT CON 940 cGy	204
3.1.6.SERIE SOMETIDA A ICT CON 1000 cGy	204
3.1.7.SERIE SOMETIDA A ICT CON 1200 cGy	205
3.2.-CALCULO DE LA DL 50/30	206
3.3.-RESULTADOS DE LA SERIE CONTROL	207
3.3.1.PARAMETROS SANGUINEOS	207
3.3.2.PESAJE DE LOS ORGANOS	207
3.3.3.HISTOLOGIA	207
3.4.-RESULTADOS DE LA SERIE SOMETIDA A ICT CON LA DL 50/30 CALCULADA	207
3.4.1.OBSERVACIONES CLINICAS	215
3.4.2.MORTALIDAD	215
3.4.3.PARAMETROS SANGUINEOS	216
3.4.4.PESAJE DE LOS ORGANOS	217
3.4.5.ALTERACIONES HISTOLOGICAS	218
3.5.-RESULTADOS DE LA SERIE CON ADMINISTRACION INTRAPERITONEAL DE LITIO PREVIA A LA ICT	231
3.5.1.OBSERVACIONES CLINICAS	231
3.5.2.MORTALIDAD	231
3.5.3.PARAMETROS SANGUINEOS	232
3.5.4.PESAJE DE LOS ORGANOS	233
3.5.5.ALTERACIONES HISTOLOGICAS	233
3.6.-RESULTADOS DEL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE AMBAS SERIES	250
3.6.1.OBSERVACIONES CLINICAS	250
3.6.2.MORTALIDAD	250
3.6.3.PARAMETROS SANGUINEOS	251
3.6.4.PESAJE DE LOS ORGANOS	252
3.6.5.ALTERACIONES HISTOLOGICAS	252

3.- RESULTADOS.

3.1.- SUPERVIVENCIA DE LAS SERIES USADAS PARA EL CALCULO DE LA DL 50/30.

Sea cual sea el método usado para el cálculo de la DL 50/30, la esencia del proceso es el cálculo de un punto desconocido en una determinada gráfica. Cuantos más puntos conocidos de dicha gráfica puedan obtenerse mayor será la facilidad y la exactitud de dicho cálculo. Debido a la existencia de resultados dispares con respecto a este valor (452) (10), tuvo que planificarse la metodología del hallazgo de la DL 50/30 de radiación gamma del Co^{60} para la rata Wistar en nuestras condiciones de trabajo.

Para esta fase de la investigación se dispuso de un total de 350 animales de experimentación que fueron distribuidos en 7 series de 50 animales cada una para ser sometidos a ICT con distintas dosis de radiación gamma y posteriormente a un período de observación de 30 días.

3.1.1. PRIMERA SERIE. ICT con 800 cGy.

Se le administró una dosis de 800 cGy no muriendo ningún animal en el período de observación postirradiación, lo que representa una mortalidad del 0 % al cabo de los 30 días.

3.1.2. SEGUNDA SERIE. ICT con 900 cGy.

Se administró una dosis de 900 cGy. Murieron 5 animales durante el período de observación, lo que representa una mortalidad del 10 % al cabo de los 30 días y que confirma los resultados anteriores de Martin y cols. (478).

Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 1 animal murió en el decimosegundo día postirradiación.
- 2 animales murieron en el decimotercer día postirradiación.
- 2 animales murieron en el decimocuarto día postirradiación.

3.1.3. TERCERA SERIE. ICT con 908 cGy.

Se le administró una dosis de 908 cGy. Murieron veinte animales, lo que representa una mortalidad del 40 %. Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 3 animales murieron en el noveno día postirradiación.
- 7 animales murieron en el décimo día postirradiación.
- 1 animal murió en el undécimo día postirradiación.
- 1 animal murió en el decimocuarto día postirradiación.
- 3 animales murieron en el decimoquinto día postirradiación.
- 5 animales murieron en el decimosexto día postirradiación.

3.1.4. CUARTA SERIE. ICT con 928 cGy.

Se le administró una dosis de 928 cGy. Murieron treinta y cinco animales, lo que representa una mortalidad del 70 %. Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 2 animales murieron en el octavo día postirradiación.
- 5 animales murieron en el noveno día postirradiación.
- 5 animales murieron en el décimo día postirradiación.
- 8 animales murieron en el undécimo día postirradiación.
- 9 animales murieron en el duodécimo día postirradiación.
- 3 animales murieron en el decimotercer día postirradiación.
- 3 animales murieron en el decimoquinto día postirradiación.

3.1.5. QUINTA SERIE. ICT con 940 cGy.

Se le administró una dosis de 940 cGy. Murieron cuarenta animales, lo que representa una mortalidad del 80 %. Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 2 animales murieron en el noveno día postirradiación.
- 10 animales murieron en el décimo día postirradiación.
- 10 animales murieron en el undécimo día postirradiación.
- 7 animales murieron en el duodécimo día postirradiación.
- 5 animales murieron en el decimocuarto día postirradiación.
- 4 animales murieron en el decimoquinto día postirradiación.
- 1 animal murió en el decimosexto día postirradiación.
- 1 animal murió en el decimoséptimo día postirradiación.

3.1.6. SEXTA SERIE. ICT con 1.000 cGy.

Se le administró una dosis de 1.000 cGy. Murieron un total de cuarenta y cinco animales, lo que representa una mortalidad del 90 %. Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 5 animales murieron en el octavo día postirradiación.
- 11 animales murieron en el noveno día postirradiación.
- 2 animales murieron en el décimo día postirradiación.
- 5 animales murieron en el duodécimo día postirradiación.
- 10 animales murieron en el decimotercer día postirradiación.
- 5 animales murieron en el decimocuarto día postirradiación.
- 5 animales murieron en el decimoquinto día postirradiación.
- 1 animal murió en el decimosexto día postirradiación.
- 1 animal murió en el decimoséptimo día postirradiación.

3.1.7. SEPTIMA SERIE. ICT con 1.200 cGy.

Se le administró una dosis de 1.200 cGy. Murieron todos sus componentes, lo que representa una mortalidad del 100 % al cabo de los 30 días. Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 5 animales murieron en el quinto día postirradiación.
- 20 animales murieron en el sexto día postirradiación.
- 10 animales murieron en el octavo día postirradiación.
- 15 animales murieron en el noveno día postirradiación.

El resumen de los resultados de las mortalidades obtenidas en cada serie, en función de las dosis administradas, expuestos en orden creciente son los siguientes:

- Serie de ICT con 800 cGy: 0% de mortalidad.
- Serie de ICT con 900 cGy: 10% de mortalidad.
- Serie de ICT con 908 cGy: 40% de mortalidad.
- Serie de ICT con 928 cGy: 70% de mortalidad.
- Serie de ICT con 940 cGy: 80% de mortalidad.
- Serie de ICT con 1000 cGy: 90% de mortalidad.
- Serie de ICT con 1200 cGy: 100% de mortalidad.

A la vista de estos resultados parece evidente que la DL 50/30 para nuestras condiciones de trabajo tendrá un valor entre los 908 y los 928 cGy.

Las representaciones gráficas de la cronología de las muertes ocurridas en cada serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presentan en los GRAFICOS números 1 al 6, APARTADO 10. No se representa la serie irradiada con 800 cGy por su nula mortalidad.

Las representaciones gráficas de la mortalidad acumulada de cada serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presentan en los GRAFICOS números 7 al 12, APARTADO 10. No se representa la serie irradiada con 800 cGy.

Las representaciones gráficas de la mortalidad porcentual acumulada de cada serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presentan en los GRAFICOS números 13 al 18, APARTADO 10. No se representa la serie irradiada con 800 cGy.

Las representaciones gráficas comparativas de todas las series con respecto a la cronología de las muertes en función del tiempo y las comparativas de la mortalidad acumulada se presentan en los GRAFICOS 19 y 20 respectivamente. Estos dos últimos gráficos se representan en forma tridimensional para evitar en lo posible las superposiciones. No se representa la serie irradiada con 800 cGy.

Las fichas individuales de los animales de experimentación que se emplearon para esta etapa, con el número de orden, serie a la que pertenecían y tiempo de supervivencia postirradiación se exponen en el APARTADO 9.1. (fichas nº 1 a la 350).

3.2.- CALCULO DE LA DL 50/30.

El resultado obtenido con el programa informático realizado MODULE TESIS1, con el que se efectuaba una interpolación por el método "Cubic Spline" fue el siguiente:

1.-MODULE TESIS1.

9.126408024E+0 cGy.

Se tomó como aceptable el valor de 912 cGy como supuesta DL 50/30 de radiación gamma del Co^{60} para la rata Wistar en nuestras condiciones experimentales de trabajo y se prosiguió el estudio con dos series más, de 50 animales cada una a las que se sometió a ICT con 912 cGy. A una de ellas se administró, previamente a la irradiación, 162 mg/Kg de peso de citrato de litio por vía intraperitoneal.

Simultaneamente, se efectuaron determinaciones analíticas y disección para estudio anatomopatológico a otra Serie de 50 animales de experimentación, que no fué sometida a ningun tratamietro ni manipulación, para tener los datos de toda una serie de animales como serie control.

3.3.- RESULTADOS DE LA SERIE CONTROL.

Las fichas individuales de los animales de experimentación empleados en esta fase se exponen en el APARTADO 9.2. (fichas nº 1 al 50).

3.3.1.- PARAMETROS SANGUINEOS.

Los resultados de las determinaciones efectuadas se exponen en el APARTADO 11.1 Tablas números 1, 2, 3, 4, 5 y 6, junto con los resultados de los cálculos estadísticos efectuados.

3.3.2.- PESOS DE LOS ORGANOS.

Los resultados obtenidos en el pesaje de los órganos tras la disección de los animales se exponen en el APARTADO 11.2 Tablas 1, 2, 3 y 4, junto con los resultados de los cálculos estadísticos efectuados.

3.3.3.- HISTOLOGIA.

Todos los órganos estudiados presentaron características histológicas normales. Como ejemplos se exponen las FIGURAS 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 y 34.

3.4.- RESULTADOS DE LA SERIE SOMETIDA A ICT CON 912 cGy.

Las fichas individuales de los animales de experimentación empleados en esta fase se exponen en el Apartado 9.3. (fichas nº 1 al 50).



FIGURA 27. Imagen macroscópica de dos lóbulos tiroideos normales.
Pertenece al animal nº 6 de la Serie Control.

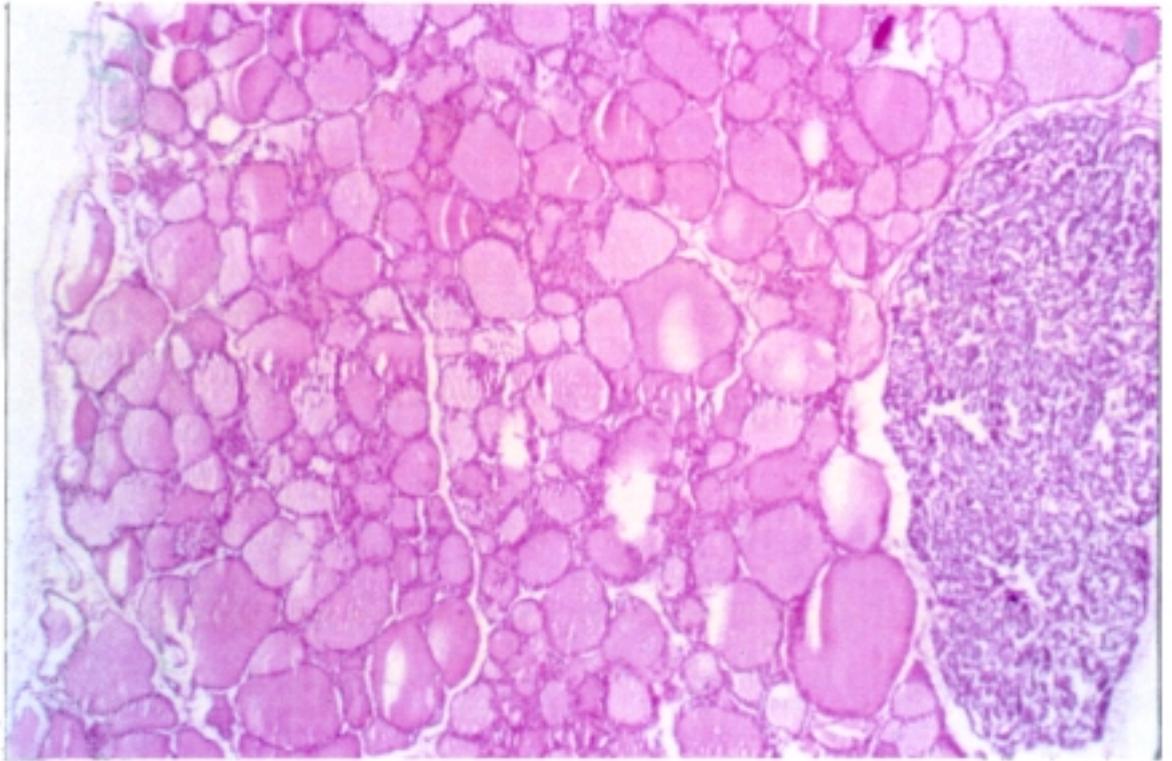


FIGURA 28. Imagen histológica de tiroides normal, mostrando los folículos repletos de coloide eosinófilo y una buena conservación del epitelio folicular y de la estructura en general. Se aprecia también la cápsula tiroidea y la glándula paratiroidea con su estructura caracterísrica. H. y E. x 250. Pertenece al animal n° 6 de la Serie Control.

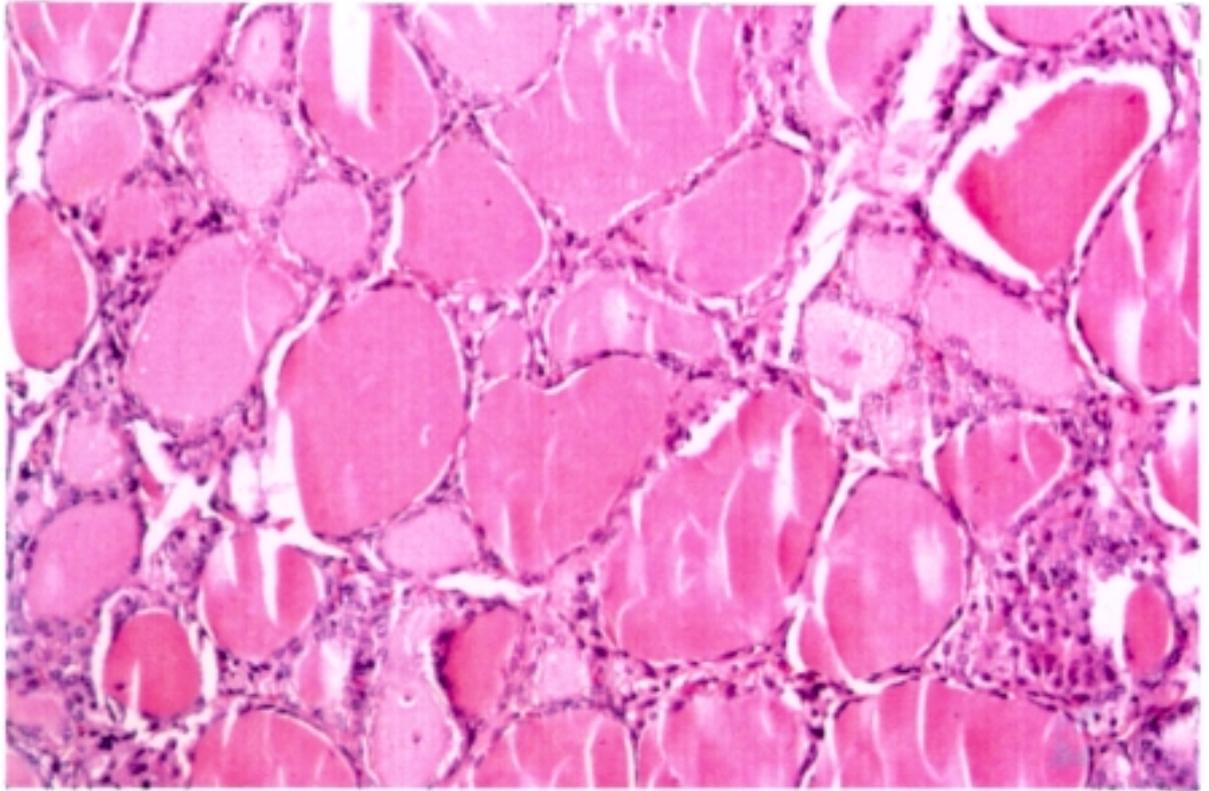


FIGURA 29. Tiroides del mismo animal a mayor aumento. H. y E. x 400



FIGURA 30. Imagen macroscópica correspondiente a estómago normal de rata, abierto y mostrando sus dos zonas: la más fina y de color violáceo es el área proximal epidermizada y la de color más claro corresponde a la zona distal glandular revestida por mucosa secretora. Pertenece al animal n° 42 de la Serie Control.

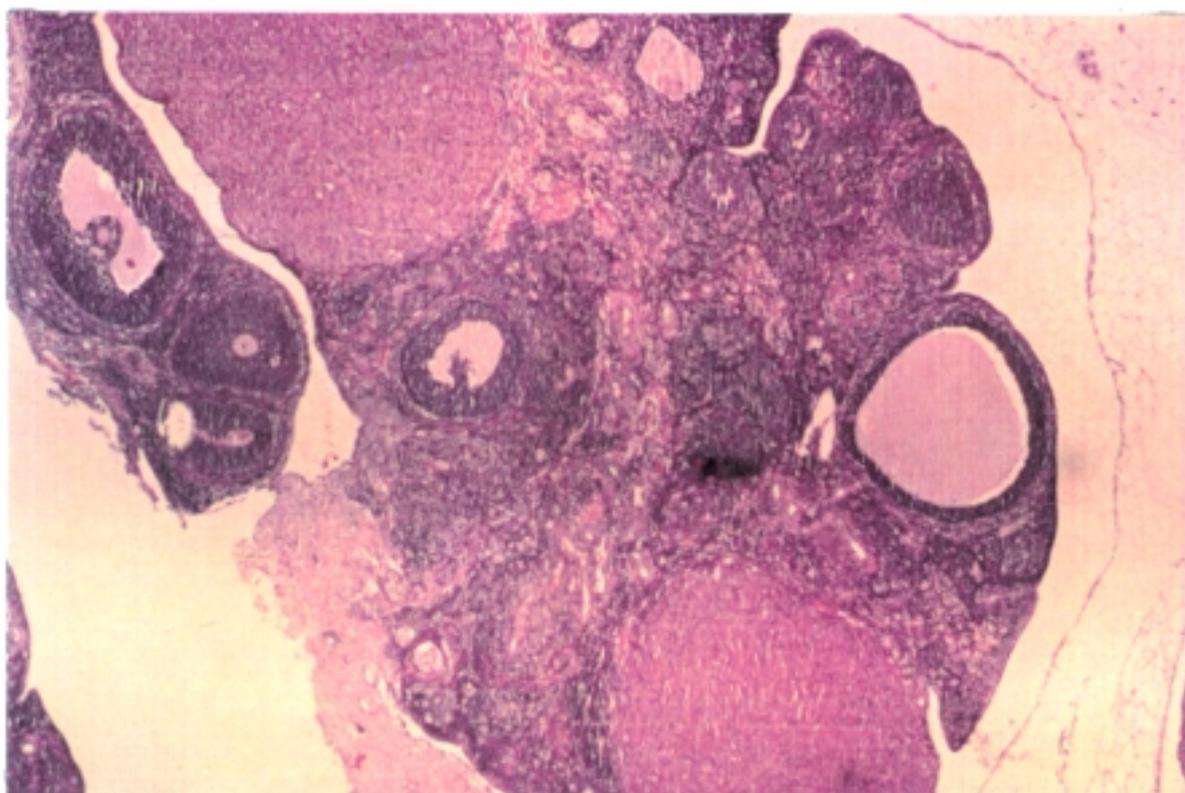


FIGURA 31. Imagen microscópica correspondiente a un ovario normal de rata, mostrando numerosos folículos: unos cortados transversalmente y otros que muestran el líquido folicular. Se observan otras masas de células más rosadas y de aspecto nodular que son áreas de aspecto luteinizado ó de secreción hormonal. H. y E. x 200. Pertenece al animal nº 17 de la Serie Control

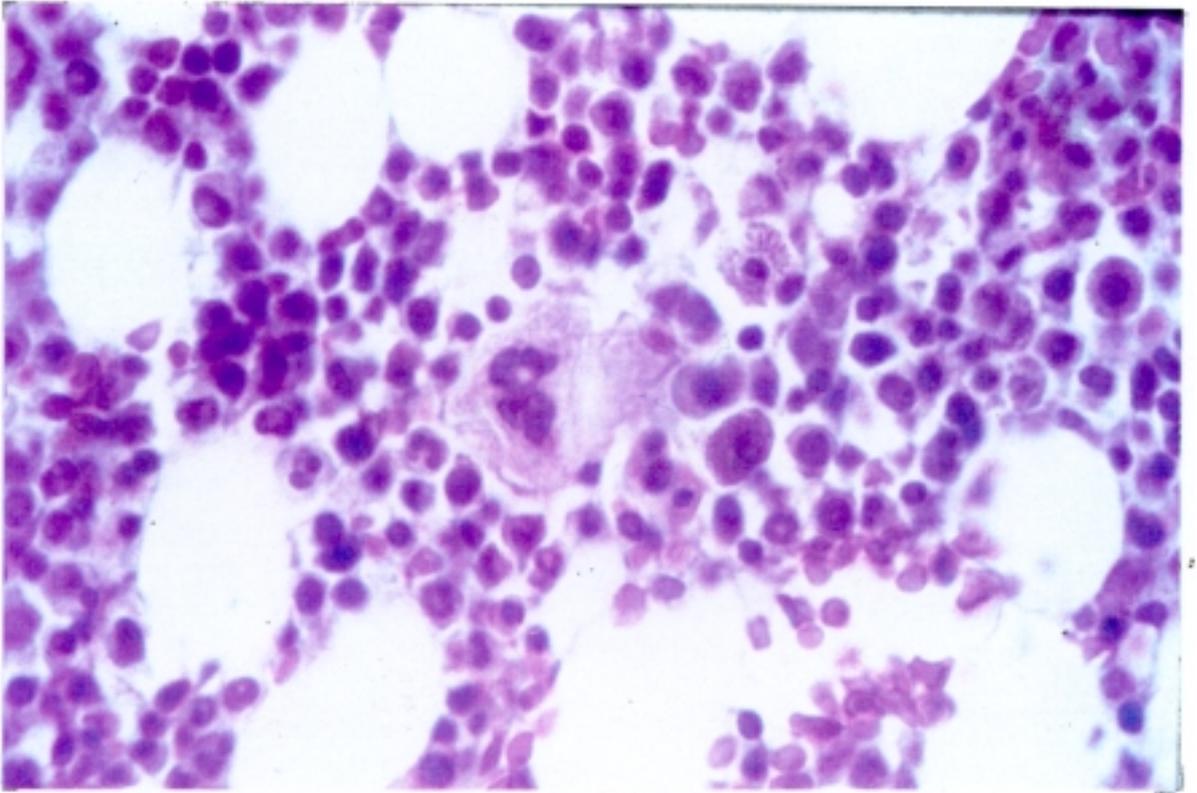


FIGURA 32

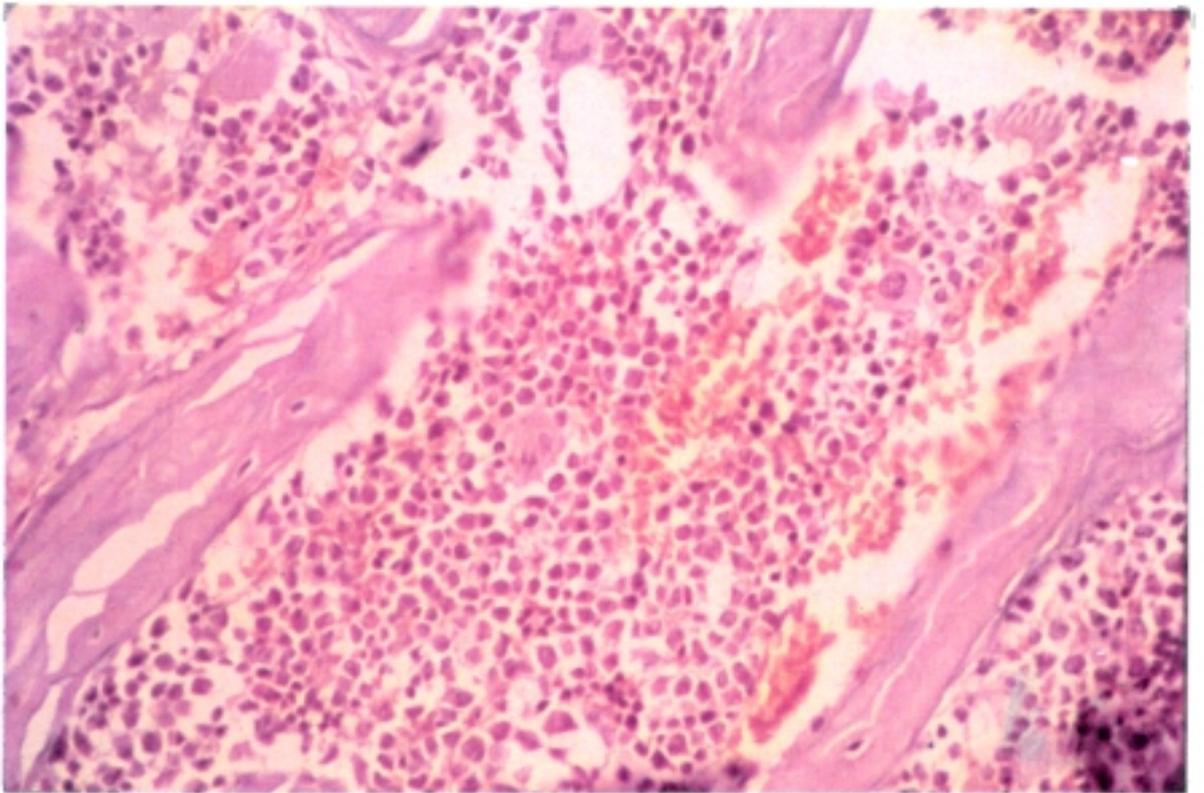
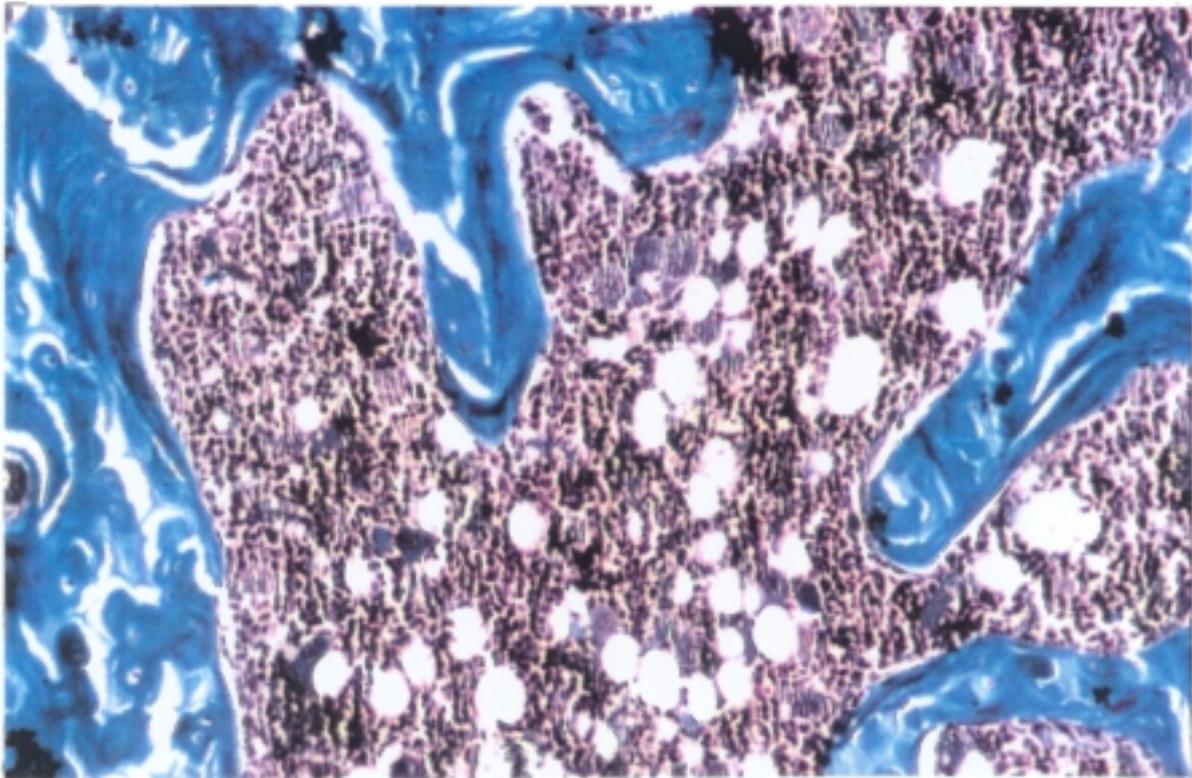


FIGURA 33



FIGURAS 32, 33 y 34. Imágenes macroscópicas de médula ósea hematopoyética normal mostrando componentes de las tres series: megacariocítica, eritroblástica y granulocítica. GIEMSA x 600, TRICROMICO DE MASSON x 400 y HEMATOXILINA Y EOSINA x 250. Pertenecen a los animales n° 1, 26 y 30 de la Serie Control.

3.4.1.- OBSERVACIONES CLINICAS.

Todos los animales de la serie presentaron diarreas, del cuarto al décimo día, con heces de menor consistencia de lo normal y claramente más brillantes, aunque la cantidad correspondiente a cada animal fuera imposible de cuantificar, lo que pone en evidencia un síndrome de malabsorción con una posible esteatorrea.

Dicho cuadro diarréico remitió progresivamente a partir del décimo día en todos los animales y en el decimosegundo día postirradiación todas las deposiciones observadas fueron normales.

Asimismo todos los animales presentaron dos fases de letargo y estupor. La primera fué del tercer al quinto día postirradiación y la segunda del decimotercero al vigésimo día postirradiación.

Evidentemente, tanto en el caso de la diarrea como del letargo debe entenderse que hablamos de los animales vivos en esos períodos de tiempo.

3.4.2.- MORTALIDAD.

Durante el período de observación de treinta días murieron 24 animales, lo que representa una mortalidad del 48 % al cabo de dicho período.

Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 2 animales murieron en el octavo día postirradiación.
- 9 animales murieron en el noveno día postirradiación.
- 3 animales murieron en el décimo día postirradiación.
- 3 animales murieron en el decimoprimer día postirradiación.
- 5 animales murieron en el decimocuarto día postirradiación.

- 2 animales murieron en el decimoquinto día postirradiación.

La representación gráfica de la cronología de las muertes ocurridas de esta serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presenta en el GRAFICO número 21.

La representación gráfica de la mortalidad acumulada de esta serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presenta en el GRAFICO número 22.

La representación gráfica de la mortalidad porcentual acumulada de esta serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presenta en el gráfico número 23.

Para evaluar la validez de la DL 50/30 calculada se efectuó la prueba de Chi Cuadrado comparando la supervivencia y mortalidad obtenidas con esta dosis (26 animales vivos y 24 animales muertos) con las que se obtendrían con la DL 50/30 ideal (25 animales vivos y 25 animales muertos).

Dicha prueba dió como resultado que, para una alfa igual a 0.025, p fué >0.05 . Por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas entre las dos mortalidades y, como consecuencia, puede darse por válido, para nuestras condiciones de trabajo, el resultado de DL 50/30 obtenido.

3.4.3.- PARAMETROS SANGUINEOS.

Los resultados de las analíticas practicadas se exponen en el Apartado 11.1 Tablas 7, 8, 9, 10, 11 y 12, junto con los resultados de los cálculos estadísticos efectuados.

Respecto a la serie control, son significativamente más altas las medias para: GOT, LDH, AP, MCV, SEG e INS.

Son significativamente más bajas las medias para: CPK, IRON, TRIG, RBC y LINF.

La varianza es significativamente más alta para: CA, CHOL, CREA, GLU, GPT, IRON, LDH, AP, PO4, K, PRO, RBC, HBi, HTO, MCV, MCH, WBC, SEG, LINF, CORT, T3, T4L e INS.

La varianza es significativamente más baja para: CPK, GOT, NA, TRIG, MCHC, T4 y ALD.

Los parámetros que son significativamente diferentes tanto para medias como para varianzas son los siguientes: CPK, GOT, IRON, LDH, AP, TRIG, RBC, MVC, SEG, LINF e INS.

Los parámetros que no son significativamente diferentes ni para medias ni para varianzas son los siguientes: ALB, TBIL, GGT, BUN, UA, MON, EOS, LI y TSH.

3.3.4.- PESOS DE LOS ORGANOS.

Los resultados obtenidos en el pesaje de los órganos tras la disección de los animales de experimentación se muestran en el APARTADO 11.2 Tablas 5, 6, 7 y 8, junto con los resultados de los cálculos estadísticos efectuados.

Unicamente un órgano presenta un aumento de peso que se traduce en una media significativamente más alta y es el Páncreas.

Presentan un descenso de peso con media significativamente más baja los siguientes órganos: Glándulas salivares, Timo, Corazón, Estómago, Bazo, Hígado, Riñones y Ovarios.

Existe una dispersión de los datos con varianzas significativamente más elevadas para: Hipófisis, Glándulas lacrimales, Estómago, Bazo, Hígado, Páncreas, Glándulas suprarrenales, Riñones y Ovarios. Por el contrario, existe un

apuntamiento con varianza significativamente más baja para Timo, Táquea y Pulmones y para el Corazón.

Los órganos que presentan medias y varianzas significativamente distintos son: Timo, Corazón, Estómago, Hígado, Páncreas, Riñones y Ovarios.

No son significativas las diferencias ni en cuanto a medias ni en cuanto a varianzas para: Encéfalo, Tiroides, Femur, Utero y Vejiga.

3.3.5.- ALTERACIONES HISTOLOGICAS.

Las alteraciones aparecidas en esta serie se presentan en las FIGURAS 35 y 36. Se ha efectuado una separación entre los animales muertos durante el período de observación y los que sobrevivieron.

1.- RATAS VIVAS.

A) CABEZA Y CUELLO.

Ningún animal presentó alteraciones valorables en encéfalo, hipófisis, ojos, glándulas lacrimales, glándulas salivares y paratiroides.

Siete animales (26,9%) presentaron en el tiroides disminución del contenido de coloide y descenso de la celularidad. Asimismo se observó tendencia del epitelio folicular a desprenderse hacia las luces foliculares (FIGURA 37).

B) TORAX.

Ningún animal presentó alteraciones valorables a nivel cardíaco.

Veintitres animales (92%) mostraron disminución discreta del componente linfoide tímico.

CUADRO DE ALTERACIONES HISTOLOGICAS SUFRIDAS POR LA SERIE DE RATAS SOMETIDAS A ICT (912 cGy). RATAS VIVAS.

(Solo se incluyen las alteraciones sufridas por más de una rata, se considera que un solo caso no es significativo).

UBICACION	ORGANO	Nº TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	Nº CASOS OBSERV.	%
CABEZA	ENCEFA.	26	Ninguna	26	--
	HIPOFI.	26	Ninguna	26	--
	OJOS	26	Ninguna	26	--
	GL. LA.	26	Ninguna	26	--
	GL. SA.	26	Ninguna	26	--
	TIROID.	26	Disminución del contenido de coloide y descenso de la celularidad. Tendencia del epitelio folicular a desprenderse hacia las luces foliculares.	7	26,9%
Y					
CUELLO	PARATI.	26	Ninguna	26	--
	TIMO	25	Disminución discreta del componente linfoide.	23	92%
	TORAX				
	CORAZ.	26	Ninguna	26	--
	TRAPUL.	26	Moderada congestión vascular pulmonar. Focos pequeños y aislados de E.A. y refuerzo de tabiques interalveolares.	10	38,4%
				11	42,3%
ABDOMEN	RIÑO.	26	Congestivo.	5	19,2%
	GL. SUP.	26	Ninguna.	26	--
	HIGADO	26	Estasis sinusoidal.	5	19,2%
	PANCRE.	26	Ninguna.	26	--
	BAZO	26	Atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja.	13	50%
					11
			Atrofia moderada del componente linfoide y abundantes hemosirófagos.		

FIGURA 35

UBICACION ORGANO		NOTOTAL	TIPO DE ALTERACION	NOCASOS	%
		ESTUDI.		OBSERV.	
ABDOMEN	ESOFAG.	26	Ninguna.	26	--
	ESTOMA.	26	Lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo.	11	42,3%
	I.DEL.	26	Disminución del grosor de las vellosidades.	26	100%
	I.GRUE.	26	Ninguna	26	--
	OVARIOS	26	Descenso de la celularidad de la capa granulosa de las formaciones foliculares y descenso del número de estas.	13	50%
			Gran descenso del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.	8	30,7%
	UTERO	26	Ninguna	26	--
	VAGINA	26	Ninguna	26	--
	VEJIGA	26	Ninguna	26	--
	OTROS				
	HUESO	11	Ligera deplección del tejido hematopoyético que se sustituye por tej. graso maduro. No se observa fibrosis reactiva.	6	23%
			Focos aislados de tejido hematopoyético. Resto sustituido por tejido graso maduro. No se observa fibrosis reactiva.	2	7,6%

FIGURA 35 (continuación)

CUADRO DE ALTERACIONES HISTOLOGICAS SUFRIDAS POR LA SERIE DE RATAS SOMETIDAS A ICT (912 cGy). RATAS MUERTAS.
 (Solo se incluyen las alteraciones sufridas por más de una rata, se considera que un solo caso no es significativo).

UBICACION	ORGANO	Nº TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	Nº CASOS OBSERV.	%
CABEZA	ENCEFA.	23	Ninguna	23	--
	HIPOFI.	23	Ninguna	23	--
	OJOS	23	Ninguna	23	--
	GL. LA.	23	Ninguna	23	--
Y	GL. SA.	23	Ninguna	23	--
	TIROID.	23	Disminución del contenido de coloide y celularidad de menor tamaño de lo habitual.	6	26%
CUELLO	PARATI.	23	Ninguna	23	--
	TIMO	23	Disminución discreta del componente linfocitario. Atrofia intensa del componente linfocitario.	5	21,7%
TORAX	CORAZ.	24	Ninguna	16	69,5%
	TRAPUL.	24	Focos pequeños y aislados de E.A. y refuerzo de tabiques interalveolares.	24	--
			Focos difusos de E.A.	11	45,8%
				7	29,1%
ABDOMEN	RIÑO.	24	Congestivo.	8	33,3%
	GL. SUP.	24	Ninguna.	24	--
	HIGADO	24	Congestivo con dilatación de venas centrolobulillares.	13	54,1%
	PANCRE.	23	Ninguna.	23	--

FIGURA 36

UBICACION	ORGANO	NOTOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	NO CASOS OBSERV.	%
ABDOMEN	BAZO	23	Atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja.	6	25%
			Atrofia subtotal del componente linfoide y presencia de abundantes hemosiderófagos.	7	29,1%
			Atrofia total del componente linfoide y abundantes hemosiderófagos.	10	41,6%
	ESOFAG.	24	Ninguna.	24	--
	ESTOMA.	24	Lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo.	14	58,3%
			Disminución del grosor de pliegues gástricos.	3	12,5%
	I.DEL.	24	Disminución del grosor de las vellosidades.	22	91,6%
			Presencia de ulceraciones y hemorragias.	8	33,3%
	I.GRUE.	24	Ulceras y hemorragias.	8	33,3%
	OVARIOS	23	Gran descenso del número de quistes foliiculares y atrofia del estroma específico.	19	82,6%
	UTERO	23	Ninguna	23	--
	VAGINA	23	Ninguna	23	--
VEJIGA	23	Ninguna	23	--	
OTROS	HUESO	24	Médula ósea totalmente ocupada por tejido graso maduro. No se observa fibrosis reactiva.	23	95,8%
	GRASA	24	Disminución de grasa generalizada que afecta a grasa periovárica, del mesoperitoneo, del eje mesentérico y peripancreática.	7	29,1%

FIGURA 36 (continuación)

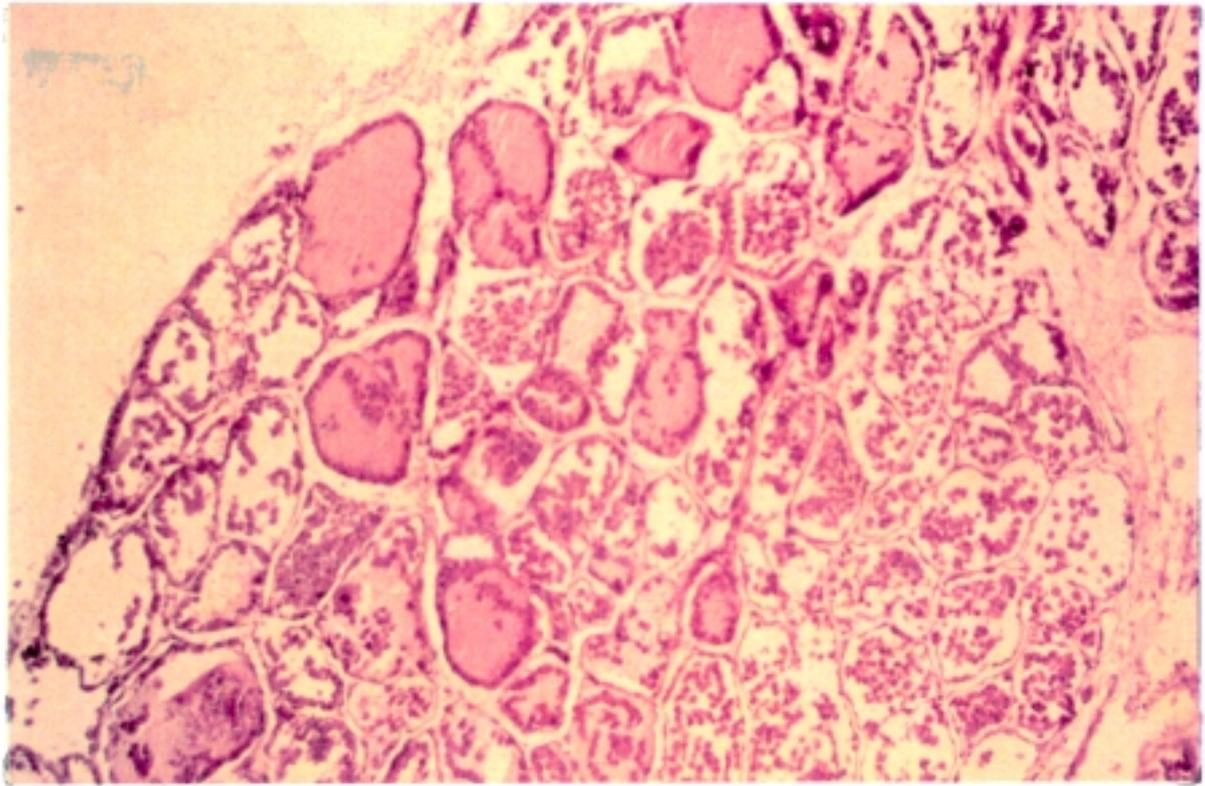


FIGURA 37. Imagen correspondiente a tiroides de rata sometida a ICT con 912 cGy. Destaca la pérdida de coloide y la atrofia folicular. Muchos folículos han perdido el coloide y los centros foliculares se muestran ocupados por elementos descamativos. H. y E. x 250. Pertenece al animal n° 12 de la Serie sometida a ICT con 912 cGy.

Diez animales (38,4%) presentaron moderada congestión vascular pulmonar.

Once animales (42,3%) presentaron focos pequeños y aislados de edema agudo de pulmón y refuerzo de tabiques interalveolares.

C) ABDOMEN.

Ningún animal presentó alteraciones valorables a nivel de esófago, glándulas suprarrenales, páncreas, intestino grueso, útero, vagina y vejiga.

Once animales (42,3%) presentaron, en la zona epidermizada gástrica correspondiente a la zona gástrica proximal, lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano que contenían pseudoquistes de contenido queratinoso y exudativo (FIGURAS 38 y 39).

Todos los animales presentaron disminución del grosor de las vellosidades intestinales.

En ovarios, trece animales (50%) presentaron descenso de la celularidad de la capa granulosa de las formaciones foliculares y descenso del número de estas (FIGURA 40).

Ocho animales (30,7%) presentaron gran descenso en el número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.

D) OTROS.

Seis animales (23%) presentaron ligera deplección del tejido hematopoyético de médula ósea que se sustituye por tejido graso maduro.

Dos animales (7,6%) presentaron únicamente focos aislados de tejido hematopoyético estando sustituido el resto por tejido graso maduro.



FIGURA 38. Imagen macroscópica gástrica mostrando, en la zona proximal epidermizada de la mucosa, lesiones excrecentes de coloración grisácea ó marrón que contrastan con el fondo violáceo de la mucosa normal que las rodea. El centro de las mismas aparece más oscuro que el resto de las lesiones y algo umbilicado. Al estudio microscópico estos centros no estaban ulcerados y los puntos más oscuros correspondían a acúmulos superficiales de hematíes o pigmento hemático. Pertenece al animal nº 10 de la Serie sometida a ICT con 912 cGy.

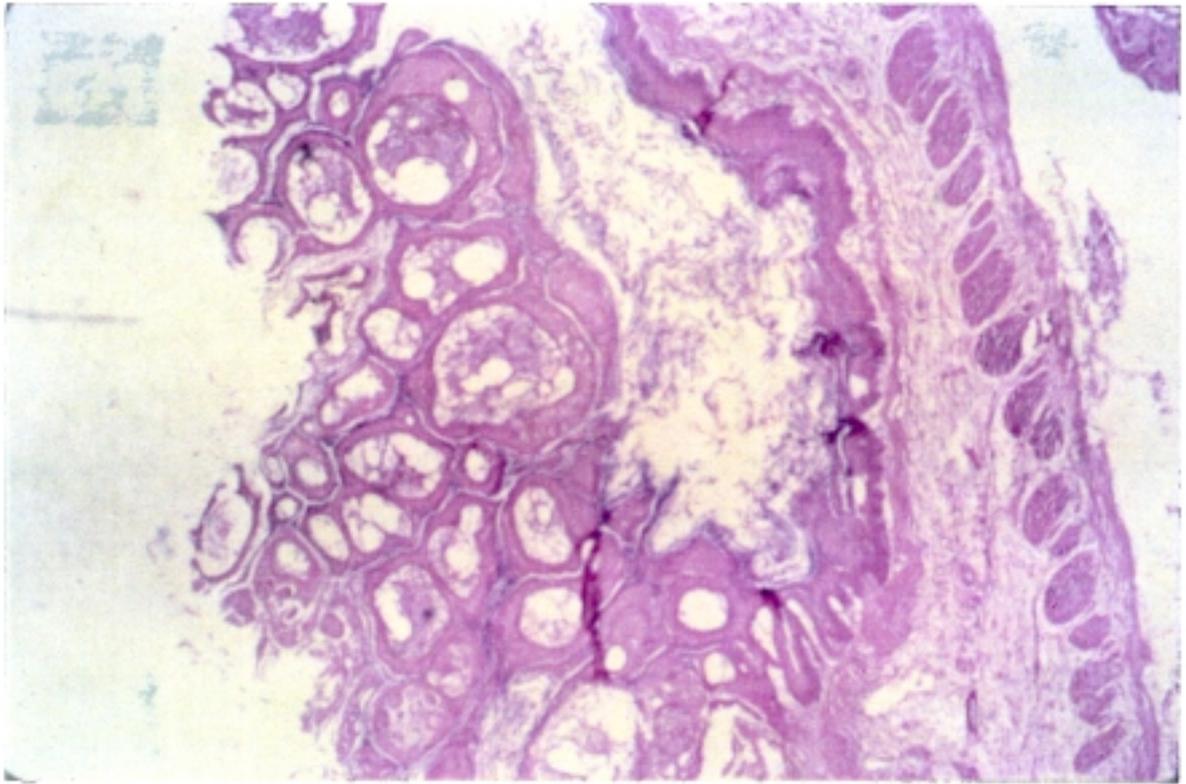


FIGURA 39. Imagen microscópica de las lesiones descritas en la Figura 38. Se observa que son excrecentes, papilomatosas e hiperqueratóticas centradas por ejes conectivos muy laxos y edematosos que a veces acumulaban un exudado eosinófilo. Estas lesiones afectaban solo al epitelio de revestimiento epidermizado y respetaban la muscularis mucosae, a la submucosa (que a veces era edematosa), a las musculares propias y a la serosa. No se apreciaron ulceraciones a nivel de estas lesiones. H. y E. x 250. Pertenece al animal n° 10 de la Serie sometida a ICT con 912 cGy.

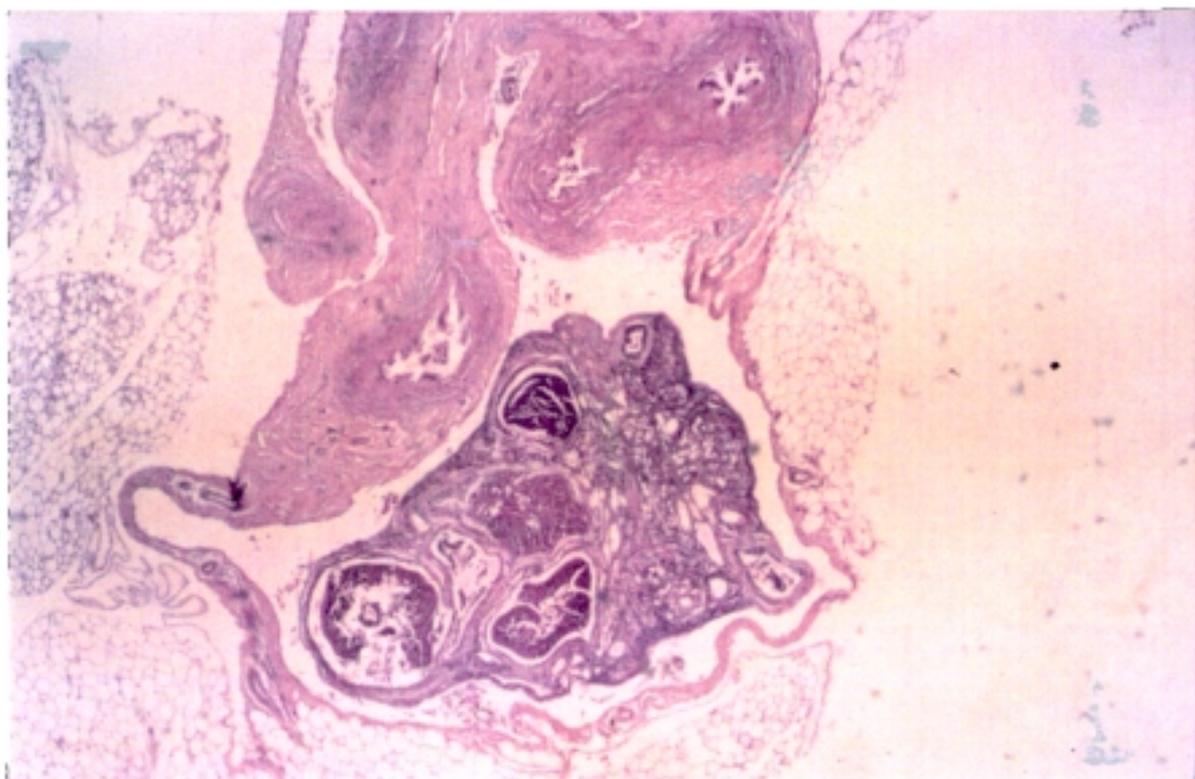


FIGURA 40. Ovario de rata sometida a ICT con 912 cGy. Aparece empequeñecido y atrófico mostrando disminución del número de folículos. En esta imagen se observa como el ovario está rodeado por una cápsula que contiene líquido folicular y como la trompa, cortada en varias secciones, puede recoger la totalidad de los óvulos maduros por tratarse de un sistema semicerrado que drena sólo hacia la cavidad uterina. H. y E. x 200. Pertenece al animal nº 25 de la Serie sometida a ICT con 912 cGy.

En ningún caso se observó la existencia de fibrosis reactiva (mielofibrosis).

2.- RATAS MUERTAS.

A) CABEZA Y CUELLO.

Ninguno de los animales presentó alteraciones objetivables en encéfalo, hipófisis, ojos, glándulas lacrimales, glándulas salivares y paratiroides.

Seis animales (26%) presentaron en tiroides una disminución del contenido de coloide y celularidad de menor tamaño de lo habitual.

B) TORAX.

No se observó alteración a nivel cardíaco en ningún animal de experimentación.

En timo, cinco animales (21,7%) presentaron disminución discreta del componente linfoide y dieciseis animales (69,5%) presentaron una atrofia intensa del componente linfoide.

Siete animales (29,1%) presentaron focos difusos de edema agudo de pulmón que ocupaban gran parte del parénquima (FIGURA 41).

Once animales (45,8%) presentaron focos pequeños y aislados de edema agudo de pulmón y refuerzo de los tabiques interalveolares.

C) ABDOMEN.

No se observó ninguna alteración valorable a nivel de esófago, riñones, páncreas, útero, vagina y vejiga.

Ocho animales (33,3%) presentaron riñones congestivos.

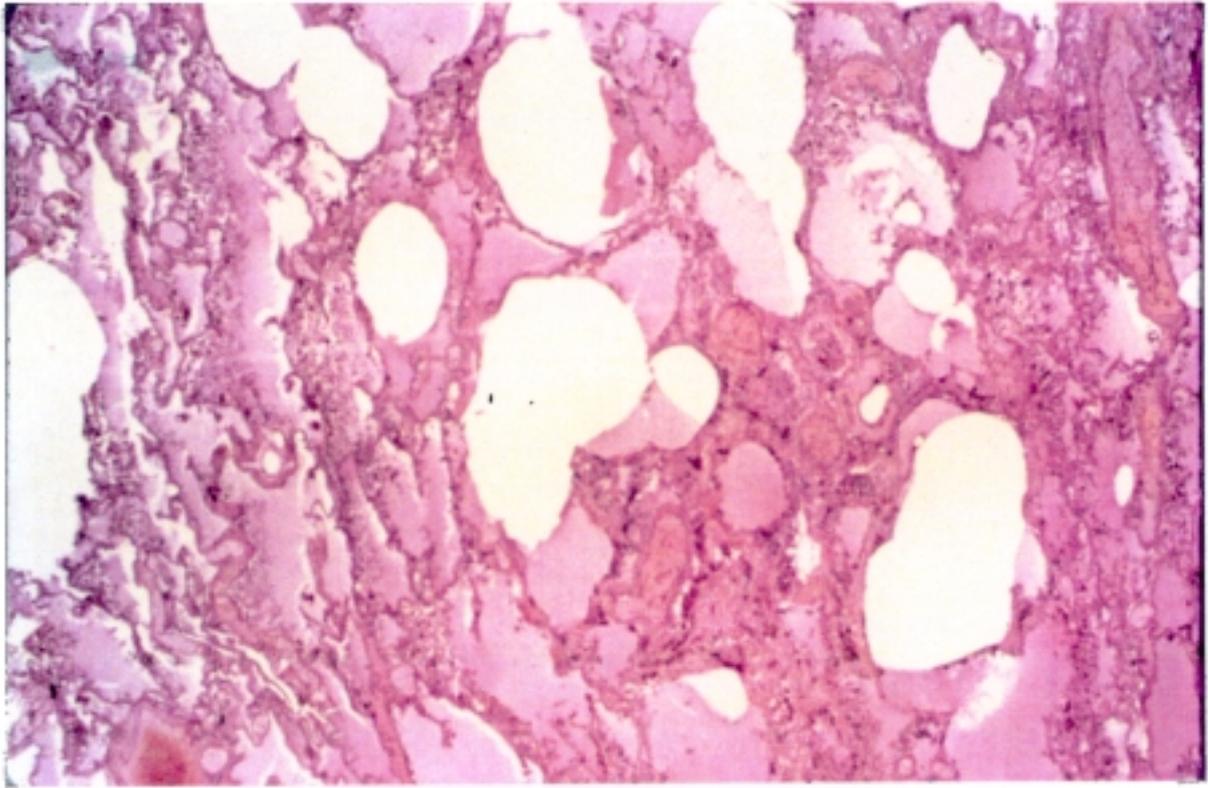


FIGURA 41. Edema agudo de pulmón en rata sometida a ICT con 912 cGy. Se aprecia edema intraalveolar, eosinófilo, proteináceo, amorfo. H. y E. x 250. Pertenece al animal n° 35 de la Serie sometida a ICT con 912 cGy.

Trece animales (54,1%) presentaron congestión hepática con dilatación de venas centrolobulillares.

En bazo, seis animales (25%) mostraron atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja. Siete animales (29,1%) presentaron atrofia subtotal del componente linfoide y presencia de abundantes hemosiderófagos. Diez animales (41,6%) presentaron atrofia total del componente linfoide y presencia de abundantes hemosiderófagos.

En estómago, tres animales (12,5%) presentaron disminución del grosor de los pliegues gástricos. Catorce animales (58,3%) presentaron lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo.

En intestino delgado veintidos animales (91,6%) mostraron disminución del grosor de las vellosidades intestinales. En ocho animales (33,3%) se objetivó la presencia de ulceraciones en la mucosa y áreas hemorrágicas.

En intestino grueso, ocho animales (33,3%) presentaron ulceraciones y hemorragias.

En ovarios, diecinueve animales (82,6%) presentaron un gran descenso en el número de formaciones vesiculares y atrofia del estroma específico.

D) OTROS.

Veintitres animales (95,8%) mostraron una ocupación total de la médula ósea por tejido graso maduro, no observándose mielofibrosis.

Siete animales (29,1%) presentaron una disminución generalizada de grasa que afectaba a grasa periovárica, del mesoperitoneo, del eje mesentérico y peripancreática.

3.5.-RESULTADOS DE LA SERIE CON ADMINISTRACION INTRAPERITONEAL DE LITIO PREVIA A LA ICT CON 912 cGy.

Las fichas individuales de los animales de experimentación empleados en esta etapa se exponen en el APARTADO 9.4. (fichas nº 1 al 50).

3.5.1.- OBSERVACIONES CLINICAS.

Todos los animales presentaron diarreas, del cuarto al décimo día, con heces de menor consistencia de lo normal y claramente más brillantes. Asimismo en el decimosegundo día postirradiación todas las heces observadas fueron de aspecto y consistencia normal.

También pudieron observarse dos fases estuporosas. La primera comprendió los días tercero y cuarto postirradiación y la segunda del decimosegundo al decimonoveno postirradiación.

3.5.2.- MORTALIDAD.

Durante el período de observación de treinta días murieron 27 animales, lo que representa una mortalidad del 54 % al cabo de dicho período.

Las muertes ocurrieron según la siguiente cronología:

- 13 animales murieron en el decimoprimer día postirradiación.
- 2 animales murieron en el decimosegundo día postirradiación.
- 5 animales murieron en el decimoquinto día postirradiación.
- 7 animales murieron en el decimosexto día postirradiación.

La representación gráfica de la cronología de las muertes ocurridas de esta serie en función del tiempo

transcurrido postirradiación se presenta en el GRAFICO número 24.

La representación gráfica de la mortalidad acumulada de esta serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presenta en el GRAFICO número 25.

La representación gráfica de la mortalidad porcentual acumulada de esta serie en función del tiempo transcurrido postirradiación se presenta en el GRAFICO número 26.

3.5.3.- PARAMETROS SANGUINEOS.

Los resultados de las analíticas efectuadas se exponen en el APARTADO 9.1 Tablas 13, 14, 15, 16, 17 y 18 junto con los resultados de los cálculos estadísticos efectuados.

Respecto a la Serie Control, son significativamente más altas las medias para: LDH, AP, BUN, TSH e INS.

Son significativamente más bajas las medias para: CPK, IRON, RBC, T3, T4, T4L y ALD.

La varianza es significativamente más alta para: CA, CREA, GPT, IRON, LDH, AP, TRIG, BUN, PRO, RBC, HBi, HTC, WBC, SEG, LINF, CORT, T4L e INS.

La varianza es significativamente más baja para: CHOL, CPK, GOT, PO4, T3, T4 y ALD.

Los parámetros que son significativamente diferentes tanto para medias como para varianzas son los siguientes: CPK, IRON, LDH, AP, BUN, RBC, T3, T4, T4L, ALD e INS.

Los parámetros que no son significativamente diferentes ni para medias ni para varianzas son los siguientes: ALB, TBIL, GLU, CGT, K, NA, UA, LI, MONO y EOS.

3.5.4.- PESOS DE LOS ORGANOS.

Los resultados obtenidos en el pesaje de los órganos tras la disección de los animales de experimentación se exponen en el APARTADO 11.2 Tablas 9, 10, 11 y 12 junto con los resultados de los cálculos estadísticos efectuados.

Con respecto a la Serie Control, dos órganos presentan un aumento de peso que se traduce en una media significativamente más elevada y son Páncreas y Suprarrenales.

Los órganos que presentan una disminución de peso, lo que se traduce en una media significativamente más baja, son Tiroides, Glándulas salivares, Tráquea y Pulmones, Corazón, Estómago, Bazo, Hígado, Riñones, Utero y Vejiga.

Existe una dispersión de los datos con varianzas significativamente más elevadas para: Encéfalo, Hipófisis, Glándulas Lagrimales, Salivares, Timo, Estómago, Bazo, Hígado, Páncreas, Suprarrenales, Riñones, Utero, Vejiga y Ovarios. Por el contrario, existe un apuntamiento con varianza significativamente más baja para Tiroides, Tráquea, Pulmones y Corazón.

Los órganos que presentan medias y varianzas significativamente distintos son: Glándulas salivares, Tiroides, Tráquea, Pulmones, Corazón, Estómago, Bazo, Hígado, Páncreas, Suprarrenales, Riñones, Utero y Vejiga.

No son significativas las diferencias ni en cuanto a medias ni en cuanto a varianzas para: Femur.

3.5.5.- ALTERACIONES HISTOLOGICAS.

Las alteraciones aparecidas en esta serie se presentan en las FIGURAS 42 y 43. Se ha efectuado una separación entre los animales muertos durante el período de observación y los que sobrevivieron.

CUADRO DE ALTERACIONES HISTOLOGICAS SUFRIDAS POR LA SERIE DE RATAS SOMETIDAS A ADMINISTRACION DE LITIO INTRAPERITONEAL Y POSTERIORMENTE A ICT (912 cGy). RATAS VIVAS.

(Solo se incluyen las alteraciones sufridas por más de una rata, se considera que un solo caso no es significativo).

UBICACION ORGANO		Nº TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	Nº CASOS OBSERV.	%
CABEZA	ENCEFA.	23	Ninguna	23	--
	HIPOFI.	23	Ninguna	23	--
	OJOS	23	Ninguna	23	--
	GL. LA.	23	Ninguna	23	--
	GL. SA.	23	Ninguna	23	--
Y	TIROID.	23	Bastantes folículos vacíos y tirocitos de aspecto cúbico aplanado o bajo. Se observa cierto arrugamiento circunferencial de la disposición folicular.	23	100%
CUELLO	PARATI.	23	Ninguna	23	--

TORAX	TIMO	22	Disminución discreta del componente linfoides.	22	100%
	CORAZ.	23	Ninguna.	23	--
	TRAPUL.	23	Congestión en vasos de los tabiques interalveolares. Pequeños y aislados focos de EA. Disminución del tejido linfoides de la submucosa bronquial. Discretos focos de atelectasia y enfisema. Ligero grado de fibrosis en tabiques interalveolares. Nódulos linfoides de la submucosa bronquial conservados.	13	56,5%
				10	43,5%

FIGURA 42

UBICACION		ORGANO	Nº TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	Nº CASOS OBSERV.	%
ABDOMEN	RIÑO.		23	Congestivo.	7	30,4%
	GL. SUP.		23	Ninguna.	23	--
	HIGADO		23	Congestión vascular: sinusoidal y de venas centrolobulillares.	9	39,1%
	PANCRE.		23	Ninguna.	23	--
	BAZO		23	Atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja. Presencia de más siderófagos que en condiciones normales.	16	69,5%
				Atrofia moderada del componente linfoide.		
				Resto igual.	2	8,6%
	ESOFAG.		23	Ninguna.	23	--
	ESTOMA.		23	Lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo.	12	52,1%
	I. DEL.		23	Disminución del espesor de las vellosidades.	23	100%
	I. GRUE.		23	Ninguna.	23	--
	OVARIOS		23	Descenso del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.	18	78,3%
				Gran disminución del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.	5	21,7%

FIGURA 42 (continuación)

UBICACION ORGANO		TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	NOCASOS OBSERV.	%
ABDOMEN					
	UTERO	23	Ninguna	23	--
	VAGINA	23	Ninguna	23	--
	VEJIGA	23	Ninguna	23	--
OTROS					
	HUESO	23	Deplección ligera del tejido hematopoyético que se sustituye por tejido graso maduro. No existe fibrosis reactiva	13	56,5%
	GRASA	23	Reducción de grasa generalizada que afecta a la grasa periovárica, del mesoperitoneo, del eje mesentérico y peripancreática.	2	8,6%

FIGURA 42 (continuación)

CUADRO DE ALTERACIONES HISTOLOGICAS SUFRIDAS POR LA SERIE DE RATAS SOMETIDAS A ADMINISTRACION DE LITIO INTRAPERITONEAL Y POSTERIORMENTE A ICT (912 cGy). RATAS MUERTAS.

(Solo se incluyen las alteraciones sufridas por más de una rata, se considera que un solo caso no es significativo).

UBICACION	ORGANO	Nº TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	Nº CASOS OBSERV.	%
	ENCEFA.	26	Ninguna	26	--
	HIPOFI.	26	Ninguna	26	--
	OJOS	26	Ninguna	26	--
CABEZA	GL. LA.	26	Ninguna	26	--
	GL. SA.	26	Ninguna	26	--
	TIROID.	26	Bastantes folículos vacíos y tirocitos de aspecto cúbico aplanado o bajo. Se observa cierto arrugamiento circunferencial de la disposición folicular central.	9	34,6%
Y			Con áreas de gran atrofia del epitelio folicular con cels. histiocitarias ocupando gran parte de las pseudoluces que deberían estar ocupadas por coloide.	17	65,3%
CUELLO	PARATI.	26	Infiltrado fibroso intersticial.	6	23%

	TIMO	26	Disminución discreta del componente linfoide.	16	61,5%
TORAX			Disminución intensa del componente linfoide.	7	26,9%
	CORAZ.	27	Ninguna	27	100%

FIGURA 43

UBICACION	ORGANO	Nº TOTAL ESTUDI.	TIPO DE ALTERACION	Nº CASOS OBSERV.	%
TORAX	TRAPUL.	27	Con fibrosis intersticial a nivel de tabiques interalveolares. Abundantes focos de EA Ausencia de tejido linfoide en submucosa bronquial. El bronquio aparece con áreas denudadas de mucosa. Existen focos de atelectasia y enfisema.	19	70,3%
			Focos aislados de EA y deplección intensa del componente linfoide de la submucosa bronquial.	6	22,2%
ABDOMEN	RIÑO.	27	Congestivo.	22	81,4%
	GL. SUP.	27	Congestiva.	6	22,2%
	HIGADO	27	Congestión vascular de predominio centrolobulillar.	15	55,5%
			Congestión vascular y esteatosis de gota pequeña y mediana de predominio centrolobulillar.	10	37%
	PANCRE.	27	Ninguna.	27	--
	BAZO	27	Atrofia total del componente linfoide y abundantes histiocitos siderófagos.	20	74%
			Atrofia importante del componente linfoide y abundantes histiocitos siderófagos.	5	18,5%
ESOFAG.	27	Ninguna.	27	--	

FIGURA 43 (continuación)

=====					
UBICACION	ORGANO	Nº	TOTAL TIPO DE ALTERACION ESTUDI.	Nº CASOS OBSERV.	%
=====					
ABDOMEN	ESTOMA.	27	Lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo que afectan a la zona gástrica proximal epidermizada. Erosiones sin reacción inflamatoria o con muy poca. Desaparición del infiltrado linfocitario de la lámina propia de mucosa y submucosa.	16	59,2%
			Erosiones en mucosa.	10	37%
	I.DEL.	27	Disminución de la mucosa de las vellosidades. Presencia de ulceraciones.	10	37%
	I.GRUE.	27	Ulceraciones.	12	44,4%
	OVARIOS	27	Gran descenso del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.	10	37%
	UTERO	27	Ninguna	26	96,2%
	VAGINA	27	Ninguna	27	--
VEJIGA	27	Ninguna	27	--	

OTROS					
	HUESO	27	Médula ósea totalmente ocupada por tejido graso maduro. No se observa fibrosis reactiva.	27	100%
	GRASA	27	Disminución de grasa generalizada que afecta a grasa periovárica, del mesoperitoneo, del eje mesentérico y peripancreática.	9	33,3%

FIGURA 43 (continuación)

1) RATAS VIVAS.

A) CABEZA Y CUELLO.

No se observó ninguna alteración a nivel de encéfalo, hipófisis, ojos, glándula lagrimal, glándula salivar y paratiroides.

En tiroides, todos los animales (23;100%) presentaron bastantes folículos vacíos y tirocitos de aspecto cúbico aplanado o bajo. Se observó cierto arrugamiento circunferencial de la disposición folicular.

B) TORAX.

Ningún animal presentó alteraciones a nivel cardíaco.

Todos los animales presentaron una discreta disminución del componente linfoide en timo.

En pulmones, trece animales (56,5%) presentaron congestión en vasos de los tabiques interalveolares, focos pequeños y aislados de edema agudo y disminución del tejido linfoide de la submucosa bronquial.

También en pulmones, se observó que diez animales (43,5%) presentaban discretos focos de atelectasia y enfisema, ligero grado de fibrosis en tabiques interalveolares y conservación de los nódulos linfoides de la submucosa bronquial.

C) ABDOMEN.

No se observó ninguna alteración a nivel de esófago, glándula suprarrenal, páncreas, intestino grueso, útero, vagina y vejiga.

Siete animales (30,4%) presentaron congestión a nivel renal.

En hígado, nueve animales (39,1%) presentaron congestión vascular: sinusoidal y de venas centrolobulillares.

En bazo, dieciseis animales (69,5%) presentaron atrofia ligera del componente linfoide, congestión de la pulpa roja y presencia de mayor número de siderófagos que en condiciones normales. Dos animales (8,6%) presentaron atrofia moderada del componente linfoide, congestión de la pulpa roja y asimismo mayor número de siderófagos.

En estómago, doce animales (52,1%) presentaron lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano con pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo.

Todos los animales (23.;100%) presentaron una disminución del grosor de las vellosidades intestinales.

En ovarios, en dieciocho animales (78,3%) se observó un descenso del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico. Cinco animales (21,7%) presentaban una gran disminución del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.

D) OTROS.

Trece animales (56,5%) presentaban una ligera deplección del tejido hematopoyético de médula ósea que se sustituía por tejido graso maduro. No se observó fibrosis reactiva (mielofibrosis).

Dos animales (8,6%) presentaban una reducción generalizada de grasa que afectaba a la grasa periovárica, del mesoperitoneo, del eje mesentérico y peripancreática.

2) RATAS MUERTAS.

A) CABEZA Y CUELLO.

No se observó ninguna alteración a nivel de encéfalo, hipófisis, ojos, glándula lagrimal y glándula salivar.

En tiroides, nueve animales (34,6%) presentaban

bastantes folículos vacíos y tirocitos de aspecto cúbico aplanado o bajo. Se observó cierto arrugamiento circunferencial de la disposición folicular central. Por otra parte, diecisiete animales (65,3%) tenían áreas de gran atrofia del epitelio folicular con células histiocitarias ocupando gran parte de las pseudoluces que deberían estar ocupadas por coloide (FIGURAS 44 y 45).

Se observó infiltrado fibroso intersticial en las paratiroides de seis animales (23%).

B) TORAX.

Ningún animal presentó alteraciones a nivel del corazón.

Se observó una ligera disminución del componente linfoide tímico en dieciseis animales (61,5%) y en siete animales (26,9%) dicha disminución fué intensa.

Diecinueve animales (70,3%), en pulmón, presentaron fibrosis intersticial a nivel de tabiques interalveolares, abundantes focos de edema agudo que ocupaban gran parte del parénquima, ausencias de tejido linfoide en submucosa bronquial, el bronquio aparecía con áreas denudadas de mucosa y se observó la existencia de focos de atelectasia y enfisema. Seis animales (22%) presentaban focos aislados de edema agudo y deplección intensa del componente linfoide de la submucosa bronquial.

C) ABDOMEN.

No se observaron alteraciones a nivel de esófago, páncreas, útero, vagina y vejiga.

Veintidos animales (81,4%) presentaron congestión a nivel renal.

Seis animales (22,2%) presentaron congestión en

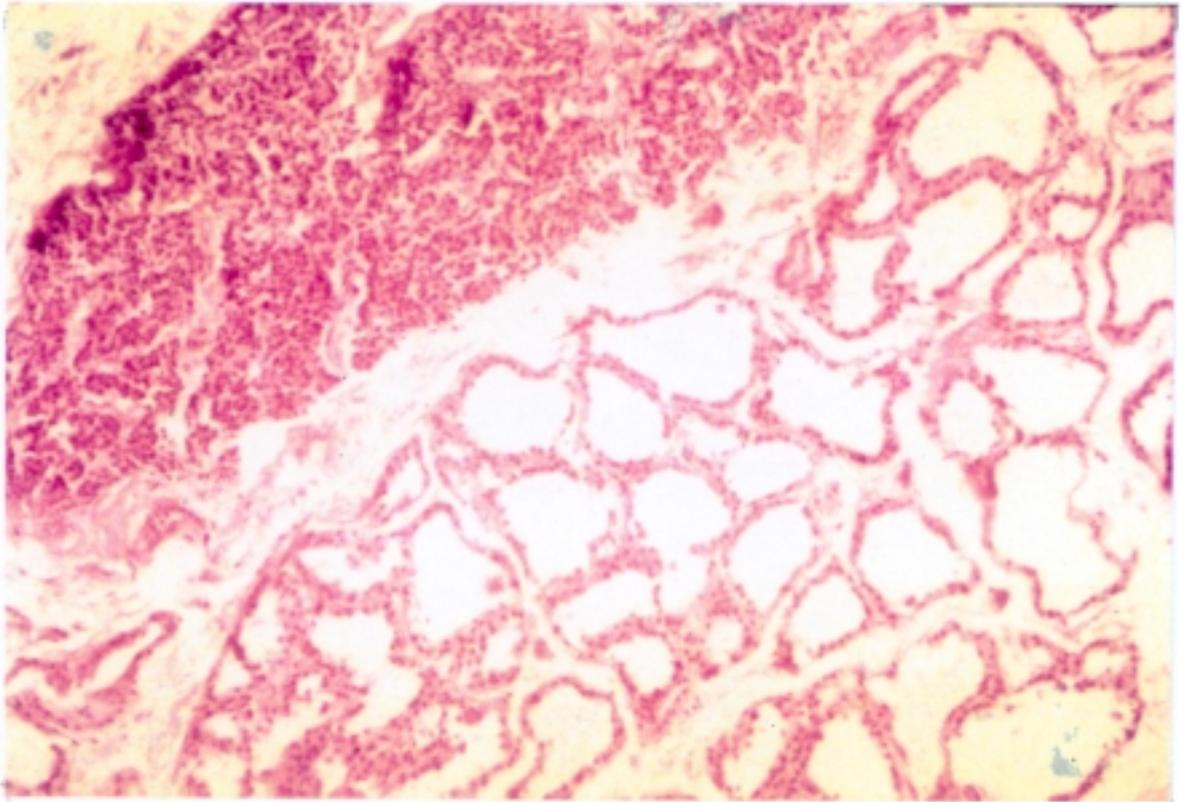


FIGURA 44. Se muestra un área de parénquima tiroideo con folículos totalmente vacíos de contenido coloide y con membranas basales retraídas. H. y E. x 400. Pertenece al animal n° 14 de la Serie con administración de Litio previa a la ICT con 912 cGy.

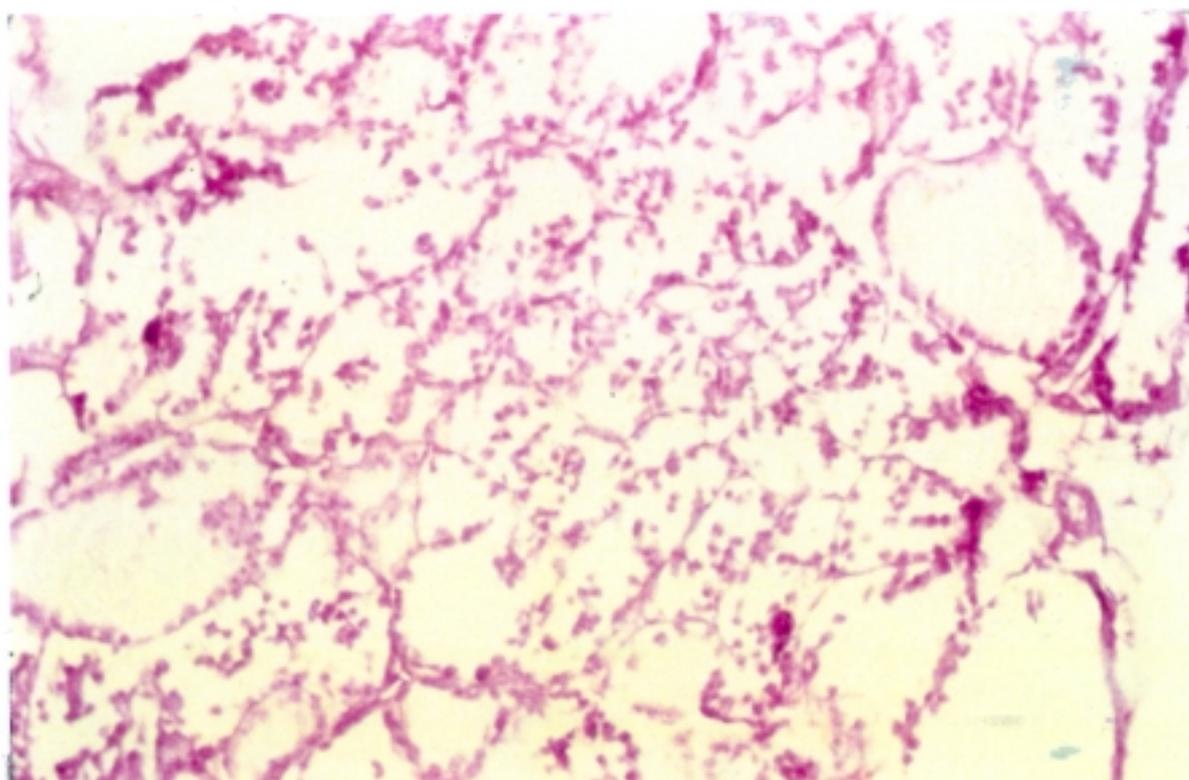


FIGURA 45. Nuevo ejemplo de desvitalización tiroidea. Los folículos están vacíos de contenido coloide, son muy irregulares en su tamaño y forma y muestran un epitelio folicular que se descama y atrofia. H. y E. x 400. Pertenece al animal n° 45 de la Serie con administración intraperitoneal de Litio previa a la ICT con 912 cGy.

glándulas suprarrenales.

En hígado, quince animales (55,5%) presentaron congestión vascular de predominio centrolobulillar. Diez animales (37%) tenían congestión vascular y esteatosis de gota pequeña y mediana de predominio centrolobulillar.

Veinte animales (74%) presentaron atrofia total del componente linfoide esplénico y presencia de abundantes histiocitos siderófagos. Cinco animales (18,5%) tenían atrofia importante del componente linfoide y presencia de mayor cantidad de lo normal de histiocitos siderófagos (FIGURA 46).

En estómago, dieciseis animales (59,2%) presentaban lesiones papilomatosas hiperqueratósicas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo que estaban situadas en la zona gástrica proximal epidermizada. Además el infiltrado linfocitario de la lámina propia de mucosa y submucosa había desaparecido. Diez animales (37%) presentaron erosiones en mucosa (FIGURA 47).

Diez animales (37%) presentaron disminución de la mucosa de las vellosidades intestinales, mientras que en doce animales se objetivó la presencia de ulceraciones y hemorragias en la mucosa.

En intestino grueso diez animales (37%) presentaban áreas hemorrágicas por ulceraciones en la mucosa.

En ovarios, veintiseis animales (96,2%) presentaron gran descenso del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico.

D) OTROS.

Veintisiete animales (100%) presentaron la médula ósea totalmente, o casi totalmente, infiltrada por tejido graso maduro sin que se observara fibrosis reactiva (FIGURAS 48 y 49).

Nueve animales (33,3%) tenían una disminución

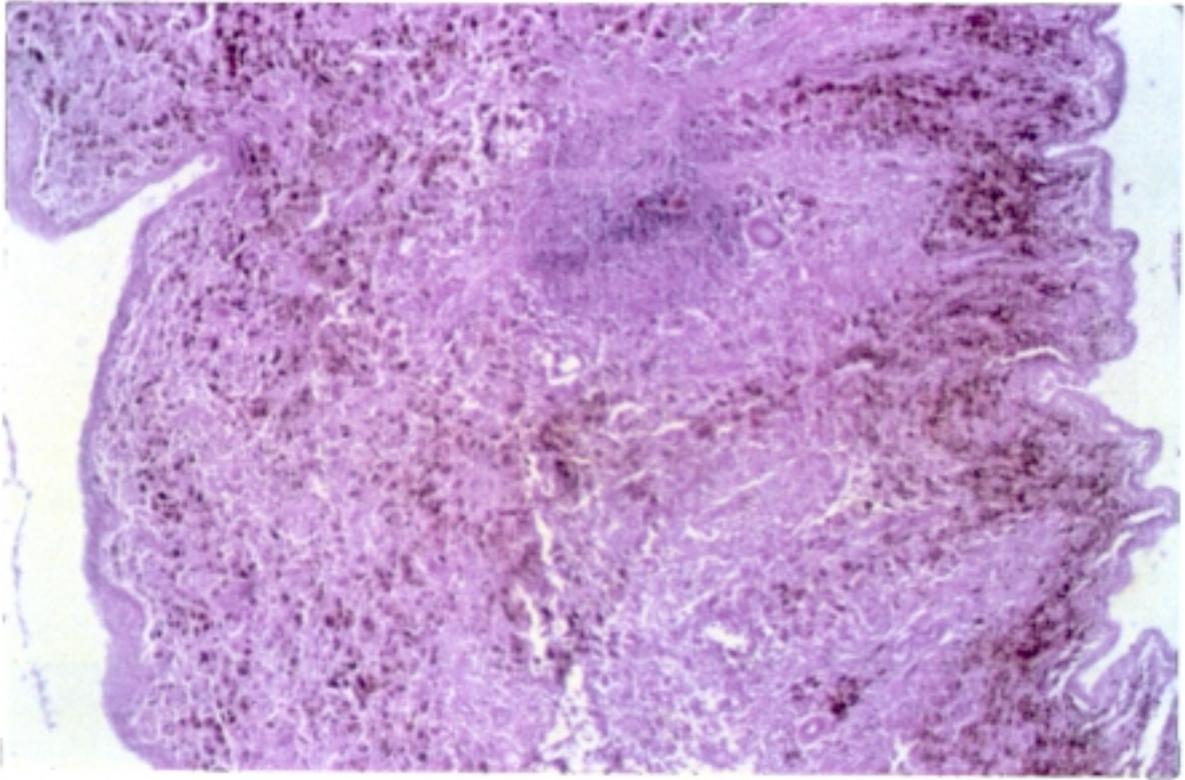


FIGURA 46. Imagen microscópica de bazo de rata perteneciente a la Serie con administración intraperitoneal de Litio previa a la ICT con 912 cGy. Se observa la práctica desaparición del componente linfoide y la gran riqueza de histiocitos cargados de pigmento hemático (hemosiderina). H. y E. x 200. Pertenecer al animal n° 44 de la Serie arriba mencionada.

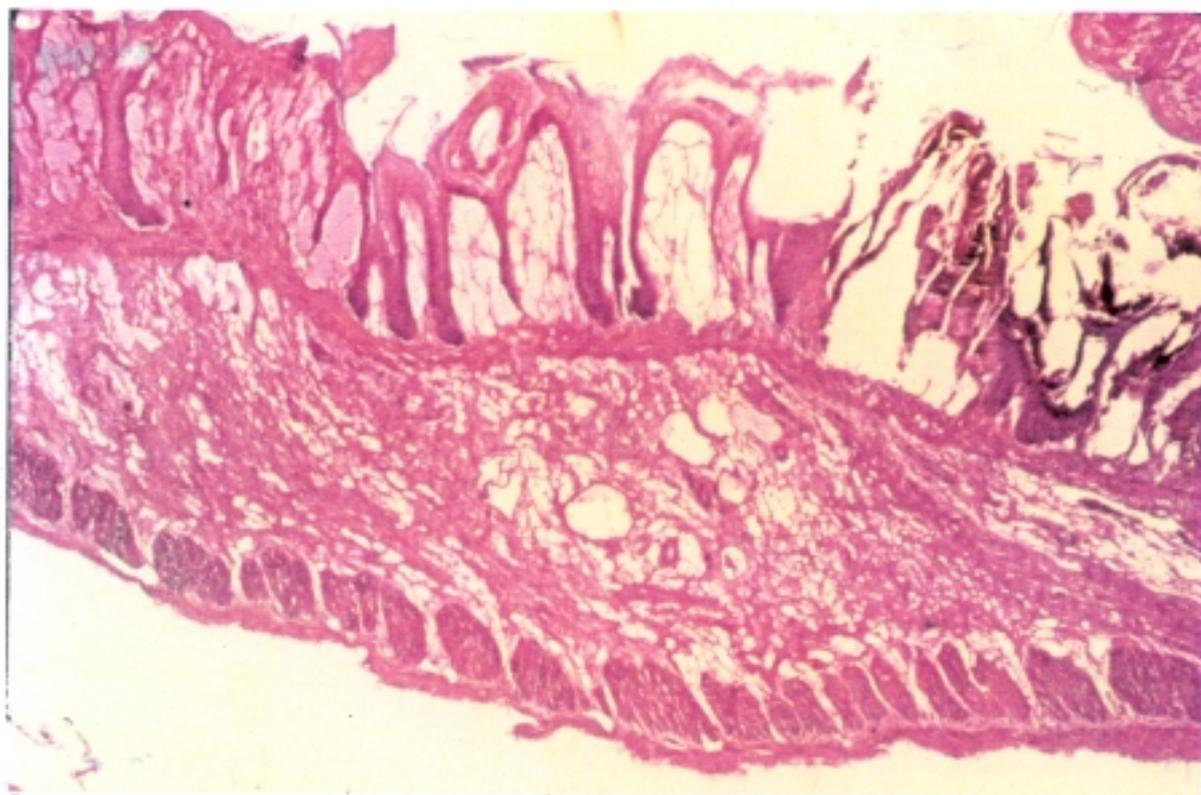


FIGURA 47. Imagen microscópica de un área de lesión papilomatosa gástrica cuyas características ya se han definido. En este caso, además, se aprecia un acúmulo de pigmento hemático que correspondía al centro de la lesión. No se observaron ulceraciones a nivel de estas lesiones. H. y E. x 250. Pertenece al animal n° 38 de la Serie con administración intraperitoneal de Litio previa a la ICT con 912 cGy.

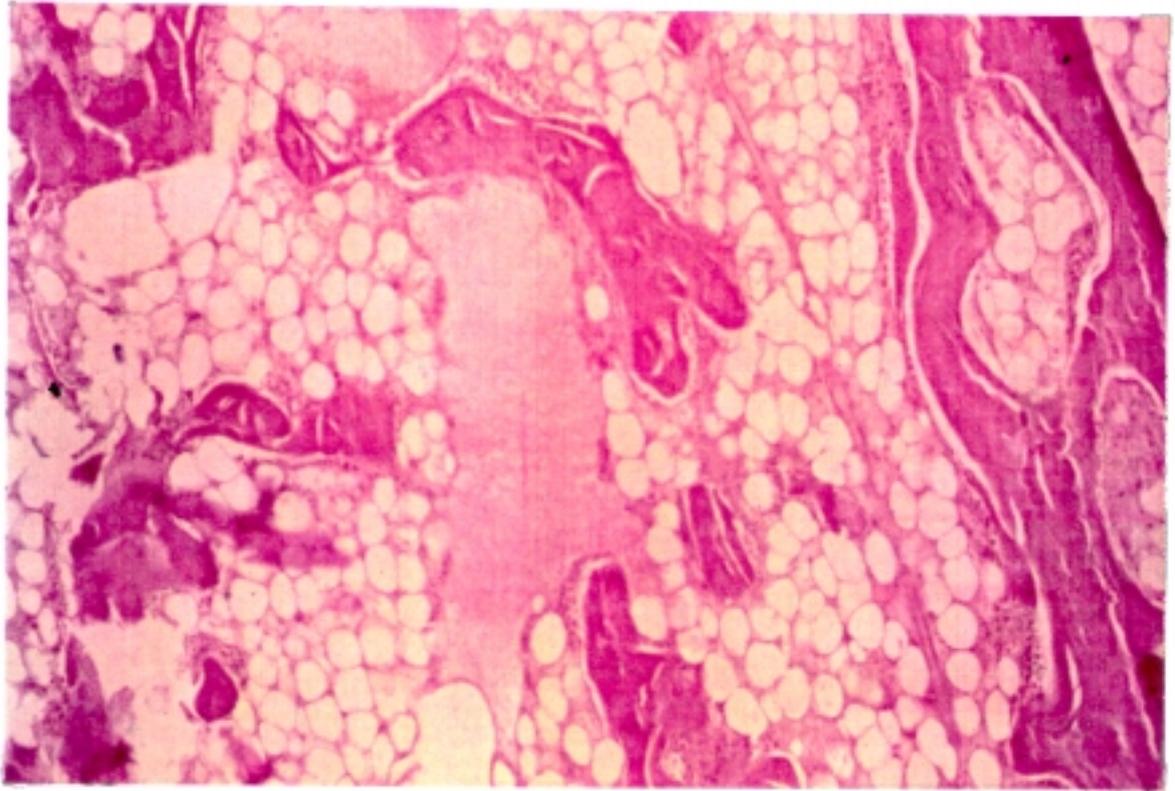


FIGURA 48.

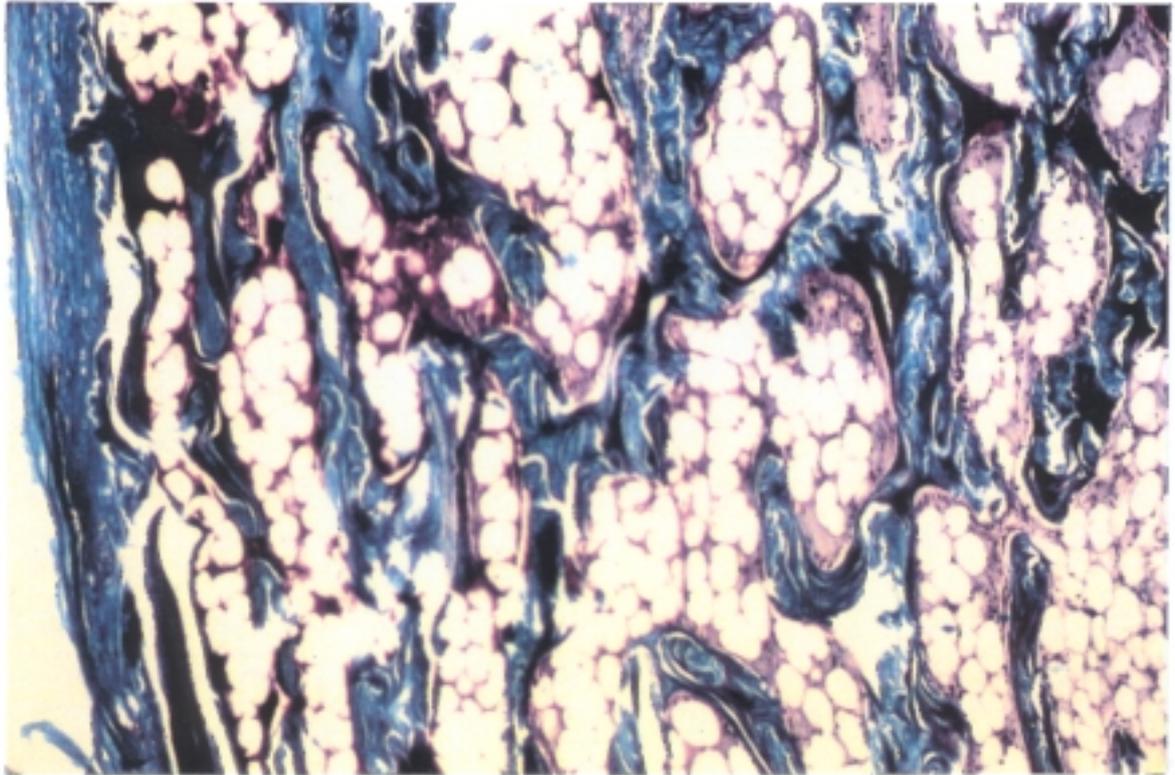


FIGURA 49.

FIGURAS 48 y 49. Imágenes microscópicas de médula ósea hematopoyética. Muestran deplección subtotal/total de elementos de la hematopoyesis y sustitución por tejido graso. Las trabéculas óseas pueden ser escasas y especialmente delgadas, lo que puede ser achacable a osteoporosis y rarefacción ósea. No se observa respuesta fibrosa. HEMATOXILINA Y EOSINA x 250, MASSON x 250. Pertenecen respectivamente a los animales números 26 y 30 de la Serie con administración intraperitoneal de Litio previa a la ICT con 912 cGy.

generalizada de la grasa que afectó a grasa periovárica, del mesoperitonéo, del eje mesentérico y peripancreática.

3.6.-RESULTADOS COMPARATIVOS DE AMBAS SERIES.

(ICT versus Li+ICT).

Debido a que se pretende valorar la efectividad del litio como radioprotector se efectúa la comparación de la Serie con administración intraperitoneal de litio previa a la ICT versus la Serie sometida únicamente a ICT.

3.6.1.-OBSERVACIONES CLINICAS.

La semiología obtenida en ambas Series estudiadas ha sido similar, tanto en los signos observados como en la cronología de su aparición.

3.6.2.-MORTALIDAD.

La representación gráfica comparativa de la cronología de las muertes en función del tiempo transcurrido postirradiación se presenta en el GRAFICO 27 y la de la mortalidad acumulada en el GRAFICO 28.

Se ha efectuado un estudio comparativo entre la curva de mortalidad de la Serie sometida a ICT con 912 cGy y la curva de mortalidad de la Serie sometida a ICT con 912 cGy posteriormente a la administración de una dosis única de 162 mg/Kg de peso de Litio intraperitoneal.

Ambas curvas se han representado mediante el método de Kaplan-Meyer (514) y el estudio comparativo se ha efectuado usando el Test de Log-Rank (515).

Se han llevado a cabo ambos procesos mediante el uso del programa informático estadístico SAS (516). Tanto las representaciones gráficas de la mortalidad de las dos series

como los resultados obtenidos se exponen en el APENDICE I, Apartado 2.

De dicho resultado, $p > 0.8003$, se deduce que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las curvas de mortalidad de ambas series.

Además se ha efectuado una comparación entre la mortalidad absoluta presentada en cada una de las dos series mediante una prueba de Chi Cuadrado. El resultado obtenido fué que, para una alfa igual a 0.025, p fué >0.05 , por lo que tampoco existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las cifras de mortalidad absoluta entre las dos series estudiadas.

3.6.3.-PARAMETROS SANGUINEOS.

Respecto a la serie sometida a ICT con 912 cGy, son significativamente más altas las medias para: GPT, IRON, AP, LINF y TSH.

Son significativamente más bajas las medias para: GOT, LDH, SEG, T3, T4 y T4L.

La varianza es significativamente más alta para: GPT, AP NA, TRIG, BUN, PRO y RBC.

La varianza es significativamente más baja para: CHOL, CPK, GLU, GOT, IRON, LDH, PO4, K, UA, HBi, HTC, WBC, SEG, LINF, T3, T4, T4L, TSH y ALD.

Los parámetros que son significativamente diferentes tanto para medias como para varianzas son los siguientes: GOT, GPT, IRON, LDH, AP, T3, T4, T4L, SEG y LINF.

Los parámetros que no son significativamente diferentes ni para medias ni para varianzas son los siguientes: ALB, TBIL, CA, CREA, LI, MON, EOS, CORT e INS.

3.6.4.-PESAJE DE LOS ORGANOS.

Respecto a la Serie de animales sometidos a ICT con 912 cGy, dos órganos presentan una disminución de peso que se traduce en una media significativamente más baja y son Tiroides y Glándulas salivares.

Existe una dispersión de los datos con varianzas significativamente más elevadas para: Encéfalo, Hipófisis y Corazón. Por el contrario, existe un apuntamiento con varianza significativamente más baja para Glándulas salivares, Tiroides, Timo, Táquea y Pulmones, Estómago, Bazo, Páncreas y Riñones.

Los órganos que presentan medias y varianzas significativamente distintos son: Glándulas salivares y Tiroides.

No son significativas las diferencias ni en cuanto a medias ni en cuanto a varianzas para: Glándulas lacrimales, Hígado, Glándulas suprarrenales, Ovarios, Femur, Utero y Vejiga.

3.6.5.-ALTERACIONES HISTOLOGICAS.

1) RATAS VIVAS.

A) CABEZA Y CUELLO.

En ninguno de los animales de las dos series se objetivaron alteraciones valorables a nivel de Encéfalo, Hipófisis, Ojos, Glándulas salivares, Glándulas lacrimales y Paratiroides, por lo tanto no existen en estos órganos diferencias estadísticamente significativas entre las dos series.

Existe una mayor afectación tiroidea, estadísticamente significativa, en la Serie con administración de litio intraperitoneal (100% de animales frente al 26,9%).

B) TORAX.

En ningún animal de las dos Series se objetivaron alteraciones valorables a nivel de corazón ni de esófago, por lo que no existe diferencia significativa en lo que a estos órganos se refiere.

En el Timo, la Serie con administración de Litio presenta un 8% más de casos con disminución discreta del componente linfoide pero dicha diferencia no es estadísticamente significativa.

En pulmón es estadísticamente significativo el mayor número de animales que presentan focos pequeños y aislados de edema agudo y congestión en los vasos de los tabiques interalveolares con respecto a la Serie sin administración de litio.

C) ABDOMEN.

No se objetivaron alteraciones en ningún animal de las dos Series en Suprarrenales, Páncreas, Intestino grueso, Utero, Vagina y Vejiga, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas respecto a estos órganos.

En riñones existe un aumento estadísticamente significativo de congestión a favor de la Serie con administración de litio.

Asimismo, en hígado, un número significativamente mayor de animales presentaron congestión vascular: sinusoidal y de venas centrolobulillares, a favor de la Serie con administración de litio.

En bazo, por una parte existe un número significativamente mayor de animales que presentan atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja a favor de la Serie con administración de litio y por otra parte existe un número significativamente menor de animales en dicha

serie que presenten una atrofia mayor del componente linfoide.

En estómago existe un 9.8% más de animales, en la Serie con administración de litio, en los que se observó la presencia de lesiones papilomatosas, hiperqueratósicas, del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo. Dichas lesiones nunca afectaban a la zona glandular gástrica. Sin embargo esta diferencia a favor de la Serie con administración de litio no fué estadísticamente significativa.

Todos los animales de las dos Series presentaron disminución del grosor de las vellosidades en intestino delgado por lo que tampoco existen diferencias significativas en este sentido.

En ovarios, por una parte existe un aumento significativo en el número de animales que presentaban descenso de la celularidad de la capa granulosa de las formaciones foliculares, de su número y atrofia del estroma específico a favor de la Serie con administración de litio, y; por otra parte, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de animales que presentaron una disminución mucho más acusada del número de formaciones foliculares y una mayor atrofia del estroma específico. En este caso la Serie con administración de litio presentaba un 9% menos de casos afectados.

D) OTROS.

En cuanto a la médula ósea, existe un predominio estadísticamente significativo a favor de la Serie con administración de litio, en cuanto al número de casos que presentaron una ligera deplección del tejido hematopoyético. Sin embargo existe una disminución estadísticamente significativa en la misma Serie del número de casos en que la afectación del tejido hematopoyético era más importante y en los que solo se observaban focos aislados del mismo.

En todos los animales afectos de ambas Series el tejido hematopoyético se sustituía por tejido adiposo maduro y en ningún caso se observó la existencia de fibrosis reactiva.

Asimismo existe una diferencia estadísticamente significativa, a favor de la Serie con administración de litio, en cuanto al número de animales en los que se observó una reducción generalizada del tejido adiposo que afectaba a la grasa periovárica, peripancreática, del mesoperitoneo y del eje mesentérico.

2) RATAS MUERTAS.

A) CABEZA Y CUELLO.

En ninguno de los animales de las dos series se objetivaron alteraciones valorables a nivel de Encéfalo, Hipófisis, Ojos, Glándulas salivares y Glándulas lacrimales, por lo tanto no existen en estos órganos diferencias estadísticamente significativas entre las dos series.

Existe un aumento estadísticamente significativo, a favor de la Serie con administración de litio, tanto en lo que se refiere al número de animales con alteraciones en tiroides, como en la naturaleza de dichas alteraciones, siendo de mayor importancia las presentadas por los animales de la Serie con administración de litio.

Asimismo, en paratiroides, también existe un aumento estadísticamente significativo de animales que presentaron un infiltrado fibroso intersticial a dicho nivel.

B) TORAX.

En ningún animal de las dos Series se objetivaron alteraciones valorables a nivel de corazón ni de esófago, por lo que no existe diferencia significativa en lo que a estos órganos se refiere.

En timo existe, por una parte un aumento

estadísticamente significativo, a favor de la Serie con administración de litio, en cuanto al número de animales que presentan una disminución discreta del componente linfoide y, por otra parte una disminución estadísticamente significativa, a favor de la misma Serie, en cuanto al número de animales que presentan una atrofia intensa del componente linfoide.

En pulmones existe una disminución estadísticamente significativa, a favor de la Serie con administración de litio, del número de animales que presentaron focos pequeños y aislados de adema agudo, refuerzo de tabiques interalveolares y deplección intensa del componente linfoide de la submucosa bronquial. Por otra parte existe un aumento estadísticamente significativo, a favor de la misma Serie, en cuanto al número de animales que presentaron abundantes focos de edema agudo que ocupaban gran parte del parénquima, fibrosis intersticial a nivel de tabiques interalveolares, focos de atelectasia y enfisema, zonas denudadas de la mucosa bronquial y ausencia de tejido linfoide en la submucosa bronquial.

C) ABDOMEN.

No se objetivaron alteraciones en ningún animal de las dos Series en Páncreas, Utero, Vagina y Vejiga, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas respecto a estos órganos.

En riñones y suprarrenales existe un aumento estadísticamente significativo, a favor de la Serie con administración de litio, en cuanto al número de animales que presentaron congestión.

En hígado por una parte, existe un aumento no estadísticamente significativo, a favor de la Serie con administración de litio, del número de animales que presentaron congestión vascular de predominio centrolobulillar y, por otra parte un aumento estadísticamente significativo, en favor de la misma serie, en cuanto a la presentación de congestión vascular

asociada con esteatosis de gota pequeña y mediana de predominio centrolobulillar.

En bazo existe una disminución significativa, a favor de la Serie con administración de litio, en cuanto a la presentación de atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja. Otro tanto ocurre con la presentación de atrofia subtotal de la pulpa roja y presencia de abundantes histiocitos siderófagos. En cambio, existe un aumento estadísticamente significativo, a favor de la misma Serie en cuanto a la presentación de casos de atrofia total del componente linfoide y presencia de gran número de histiocitos siderófagos.

En estómago existe un aumento no significativo, en favor de la Serie con administración de litio, en cuanto a la presentación de lesiones hiperqueratósicas, papilomatosas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo que afectan a la zona proximal epidermizada y que se acompañan de desaparición del infiltrado linfoide de la lámina propia de mucosa y submucosa.

Es estadísticamente significativo, en favor de la misma Serie, el aumento de presentación de erosiones gástricas.

En intestino delgado es significativamente menor el porcentaje de presentación de la disminución del grosor de las vellosidades. No existe diferencia significativa, en cambio, en cuanto al porcentaje de aparición de ulceraciones y focos hemorrágicos.

No existe diferencia estadísticamente significativa entre las dos Series en cuanto a la presentación de ulceraciones y focos hemorrágicos en intestino grueso.

Tampoco existe una diferencia estadísticamente significativa, a pesar de que es un 13.6% mayor en la Serie con administración de litio, en cuanto al porcentaje de presentación

en Ovarios de un gran descenso en el número de formaciones foliculares y gran atrofia del estroma específico.

Lo mismo ocurre en cuanto al hallazgo de la Médula ósea totalmente ocupada por tejido graso maduro, aunque en este caso la presentación sea un 4.2% mayor en la Serie con administración de litio.

De la misma manera, también es un 4.2% mayor en la Serie con administración de litio, la presentación de disminución generalizada del tejido adiposo afectando a grasa periovárica, del mesoperitoneo, peripancreática y del eje mesentérico, pero tampoco en este caso la diferencia entre las dos Series es estadísticamente significativa.

4.- DISCUSSION

<u>4.-DISCUSION</u>	259
4.1.-CALCULO DE LA DOSIS LETAL 50/30	261
4.2.-ALTERACIONES SUFRIDAS EN AMBAS SERIES TRAS LA ICT	262
4.2.1.GENERALIDADES	262
4.2.2.CLINICA	263
4.2.3.MORTALIDAD	266
4.2.4.SISTEMA NERVIOSO Y APARATO DE LA VISION	266
4.2.5.APARATO RESPIRATORIO	269
4.2.6.APARATO CIRCULATORIO	274
4.2.7.APARATO DIGESTIVO Y ORGANOS ANEJOS	276
4.2.8.SISTEMA GENITOURINARIO	287
4.2.9.SISTEMA LINFOHEMATOPOYETICO Y HEMATOLOGIA	293
4.2.10.GLANDULAS ENDOCRINAS Y METABOLISMO	302

4.- DISCUSION.

4.1.- CALCULO DE LA DOSIS LETAL 50/30.

La dosis de 900 cGy en ICT que según autores como Travis en 1979 (10), debería corresponder a la DL 50/30, ha resultado, para nuestras condiciones de trabajo, corresponder a la DL 10/30, lo que en principio corrobora los resultados obtenidos por Martín en 1990 (452). Sin embargo en una experiencia realizada por Scheving y cols. en 1988 (517), en la que se sometió a ICT a ratas machos de la rama CD2F1 administrando una dosis de 865 cGy, se definió dicha dosis como la DL 45/30 para sus condiciones de trabajo.

Bacq y Alexander en 1963 (518), después de efectuar una recopilación de distintos trabajos presentan como DL 50/30 para la rata la dosis de 665 cGy (entre 590 y 970 cGy).

La justificación de estas diferencias de resultados entre distintos investigadores hay que buscarla en la metodología del trabajo, la calidad de la radiación, el fraccionamiento de la misma, la diferencia de radiosensibilidad originada por la raza, el peso, la edad y la propia diferencia de sensibilidad entre cada uno de los animales de la misma raza y de la misma estirpe por muy homogéneas que estas sean.

Como voces más autorizadas que las nuestras han

expresado repetidamente desde el inicio de las investigaciones radiobiológicas, pensamos que es como mínimo presuntuoso intentar cuantificar y especificar el valor de la DL 50/30 para una especie debido a que, aunque deban considerarse unos valores promedio de la misma, la gran cantidad de factores que pueden influenciar la sensibilidad a las radiaciones ionizantes nos permite unicamente definir un valor aproximado a dicha DL 50/30 valiéndonos de sofisticados métodos de cálculo y especificando muy claramente que el valor hallado solo es válido para unas condiciones puntuales de experimentación.

Esto es lo que, como paso previo al trabajo investigador "per se" ha requerido la realización de esta Tesis y al valor de la Dosis Letal 50/30 calculada (912 cGy), que se ha demostrado en cuanto a sus efectos no significativamente distinta de la Dosis Letal 50/30 ideal (que sería la que causaría la muerte del 50% de los animales de experimentación al cabo de 30 días de observación), lo consideramos unicamente válido para nuestras condiciones de experimentación.

4.2.- ALTERACIONES SUFRIDAS TRAS LA ICT EN AMBAS SERIES.

4.2.1.- GENERALIDADES.

La dosis de radiación administrada a las dos Series problema de este estudio se encuentra por encima de los límite inferior de dosis fijado en mamíferos por Travis en 1979

(10) para la aparición del Síndrome de la médula ósea, comprendidos entre los 100 y los 1.000 cGy, y está comprendida cerca del límite inferior del intervalo de dosis en el que, según la misma autora, se presenta el Síndrome gastrointestinal (fundamentalmente a causa del intestino delgado) y que son desde 1.000 hasta 10.000 cGy. En principio, pues, sería lógico suponer que las alteraciones que nos encontraríamos en los animales de experimentación tanto a nivel clínico, como analítico y anatomopatológico se deberían predominantemente a estos dos Síndromes.

4.2.2.- CLINICA.

La etapa prodrómica definida por dicha autora para los primeros días comprende síntomas como náuseas, vómitos y diarreas. En nuestro caso no han podido constatar los dos primeros síntomas en ninguna de las dos Series sometidas a ICT con 912 cGy. Sin embargo en otros animales como el hurón, según observaron Tuor y cols. en 1988 (519), e inclusive en humanos, como describen varios autores, como por ejemplo Anno y cols. en 1989 (520), se observa vómito para dosis menores que las empleadas en nuestro estudio.

La semiología encontrada, por lo tanto, ha sido escasa aunque presentada por todos los animales de experimentación. Todos ellos presentaron una fase de estupor y letargo entre los días tercero y quinto postirradiación. Este

hallazgo no concuerda con los resultados obtenidos por Martín en 1990 (452) con ratas Wistar sometidas a ICT con 900 cGy. En su experiencia solo presentaban dicha fase estuporosa un 55% de los animales de experimentación. Esto puede ser debido a que, por una parte, en su experiencia se objetivó que dicha dosis de irradiación representaba únicamente la DL 10/30, extremo que se ha confirmado para nuestras condiciones de trabajo, y por otra parte a que en nuestras Series la dosis administrada ha sido lo suficientemente elevada para no ser estadísticamente distinta a la DL 50/30 ideal para nuestras condiciones de trabajo.

En cambio nuestros hallazgos concuerdan con lo expresado por Zeleny en 1956 (521) y Arbit en 1964 (522), en el sentido de que se encuentran alteraciones de la conducta en roedores después de efectuar una irradiación holocraneal con 200 cGy y que estas alteraciones son fundamentalmente de tipo inhibitorio.

También se observó en todos los animales de experimentación la presentación de un cuadro diarréico entre el cuarto y el décimo días postirradiación. Las heces eran pastosas y no tuvieron en ningún momento consistencia líquida. Su aspecto era brillante, esteatorréico, y no fueron observados cambios apreciables en su coloración.

No se observaron alteraciones destacables hasta que, todos los animales supervivientes, presentaron una nueva

fase de estupor y letargo entre el decimotercer y el vigésimo días postirradiación. Esta observación tampoco concuerda con los resultados de la Serie irradiada por Martín en 1990 (452), en que solo se observó en un 55% de los animales, probablemente por las mismas razones expuestas con anterioridad.

No se observó la existencia de catarata clínicamente manifiesta en ningún animal al final del período de observación. Esto no es de extrañar, a pesar que las dosis administradas justificarían su aparición, si se tiene en cuenta que para su aparición se requiere un período de observación considerablemente mayor (aproximadamente a los cuatro meses postirradiación) al de nuestro estudio como han demostrado entre otros Beebe en 1962 (523) y Holsclaw y cols. en 1989 (524).

No hemos observado diferencia alguna en cuanto a la clínica presentada por los animales de experimentación en las dos Series estudiadas y no existe, por lo tanto, diferencia atribuible a la administración de litio.

Como hemos afirmado anteriormente la semiología obtenida en los animales de experimentación, a pesar de su uniformidad, ha sido pobre por lo que consideramos que no se trata de un animal de experimentación idóneo para valorar efectos clínicos del Síndrome de Irradiación corporal total. Dicha afirmación concuerda con los resultados obtenidos por Martín en 1990 (452).

4.2.3.- MORTALIDAD.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la cronología de las muertes (a pesar de que en la Serie con administración de litio se inicien posteriormente). Tampoco en lo que a número de animales muertos por Serie se refiere (aunque en la Serie con administración de litio el número sea mayor). En definitiva, la evolución de las curvas de mortalidad de cada una de las dos Series estudiadas no es significativamente distinta, no pudiéndose hablar, pues de efecto radioprotector del litio en lo que a supervivencia se refiere.

4.2.4.- SISTEMA NERVIOSO Y APARATO DE LA VISION.

1) ENCEFALO.

En nuestro estudio no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas respecto a la Serie control en cuanto al peso del órgano tanto en la Serie sometida a ICT como en la Serie con administración intraperitoneal de litio previa a la ICT.

Tampoco se ha encontrado la existencia de lesiones histológicas a dicho nivel en ninguna de las dos Series valoradas.

Nuestros resultados concuerdan con los de diversos autores como Zeman y cols. en 1971 (525) y Van Der Kogel en 1980

(526) que describen la inexistencia de alteraciones en las estructuras nerviosas con rangos de dosis similares a los utilizados en nuestra experiencia debido a su relativamente baja radiosensibilidad.

No podemos por otra parte confirmar la presencia de edema cerebral como afirman Tiller-Borcich y cols. en 1987 (527), Fike y cols. en 1988 (528) y Martín en 1990 (452) por no disponer de observaciones mediante microscopía electrónica, que lo hacen más valorable.

Debe considerarse que las alteraciones neurológicas a este nivel tras la ICT no se manifiestan unicamente por síntomas estructurales objetivables sino que como manifiestan Zeleny en 1956 (521) y Arbit en 1964 (522) pueden deducirse por la existencia de procesos psíquicos de tipo inhibitor. Ello podría justificar las fases de letargo y estupor que de manera generalizada presentaron los animales de experimentación en nuestro estudio.

Calvo y cols. en 1986 (529) comunicaron la aparición de alteraciones en los plexos coroideos debidas a vacuolización o lisis parcial del citoplasma celular tras efectuar irradiación cerebral en ratas mediante Rayos X. Por una parte dicha aparición se observó al cabo de muchas semanas de observación y por otra las dosis administradas fueron

considerablemente mayores (entre 5 y 25 Gy) a las administradas en esta experiencia.

Debido a la inexistencia de alteraciones en las dos Series no podemos evaluar el posible efecto radioprotector del litio a dicho nivel.

2) OJOS.

No se han encontrado alteraciones en ninguna de las dos Series a nivel de dicho órgano tras el período de observación clínica y el estudio histológico.

Este resultado concuerda con la amplia bibliografía existente sobre el tema en la que se afirma que para dosis como la empleada en nuestra experiencia el tiempo de aparición de cataratas es considerablemente superior al de nuestra observación (aproximadamente cuatro meses) en animales de experimentación, por ejemplo el trabajo de Hoslsclaw y cols en 1989 (524). Hall en 1972 (530) especifica que, en humanos, la dosis mínima requerida para producir una catarata es de 2 Gy en una única exposición

Debido a la inexistencia de alteraciones en las dos Series no podemos evaluar la eficacia del litio como radioprotector a este nivel.

3) GLANDULAS LACRIMALES.

Existen trabajos como el de Cogan y cols. en 1955

(531) y el de Stephens y cols. en 1988 (532) sobre este particular. En el primero se describe una reducción en el 50% del tamaño glandular en conejos tras irradiación con una dosis única de 3.800 rads de Rayos X. En el segundo se encuentra una atrofia que se acompaña de pérdida de peso, que es detectable a partir del segundo día postirradiación, en monos rhesus sometidos a irradiación con rangos de dosis variables entre los 2.5 y los 20 Gy.

En nuestro estudio no se han encontrado alteraciones histológicas en ninguna de las dos Series a nivel de dicho órgano tras el período de observación clínica y el estudio histológico. Ello podría ser debido a que los animales fueron sometidos a una dosis considerablemente menor de radiación y, en segundo lugar a que el período de observación de 30 días podría ser suficiente para la reparación de las posibles lesiones producidas que, lógicamente, deberían tener una mucho menor magnitud que en las experiencias mencionadas anteriormente. Como único hallazgo destacable se observa, en ambas Series, una dispersión de datos en cuanto al peso del órgano ya que, sin ser significativamente distintas las medias, existe una elevación significativa de las varianzas respecto a la Serie control.

4.2.5.- APARATO RESPIRATORIO.

1)TRAQUEA Y PULMUNONES.

Se conoce que las neumonitis radioinducidas son una de las complicaciones más severas y decisivas en la resolución final del Síndrome de Irradiación Corporal Total como mencionan entre otros Ahmed y cols. en 1986 (533) y Molls y cols. también en 1986 (534). La neumonitis se resuelve produciéndose, tras un período de tiempo aproximado de seis meses, una fibrosis del tejido pulmonar irradiado, como recuerdan Penney y cols. en 1985 (535).

Kwock y cols. en un estudio realizado en 1987 (536), donde se valora el efecto de la radiación ionizante en los vasos pulmonares de ratas destacan que aún en animales en que no se encuentran alteraciones histológicas, se presentan alteraciones funcionales importantes.

Fariña, en 1975 (537), destacó que las lesiones pulmonares se establecen sin que exista predominio alguno de alguna/s zona/s del parénquima sobre las demás, siempre que la irradiación se efectuó de manera uniforme. Otra conclusión interesante fué que, a pesar de utilizar un rango de dosis entre los 20 y los 40 Gy, no se observaron lesiones generalizadas en todo el parénquima persistiendo zonas con estructuras habituales, tanto en observación con microscopía óptica como electrónica. Los primeros elementos en lesionarse fueron el neumocito tipo I y la célula endotelial de los capilares sanguíneos. Posteriormente se producen una serie de lesiones

perivasculares que condicionan la aparición de un linfedema pulmonar.

Como concluyen Gregoire y cols. tras un estudio realizado en 1989 (538), en el que se valoró la cinética de reparación del pulmón e intestino de ratones sometidos a irradiación con fotones y neutrones rápidos, la reparación tisular postirradiación es muy lenta en el aparato respiratorio en comparación con la que tiene lugar en el intestino.

Según el estudio realizado en ratas por Ward y cols. en 1988 (539), tras la irradiación pulmonar se produce una disminución de la actividad de la enzima angiotensina convertasa y del factor activador del plasminógeno. Dicha disminución es directamente proporcional a la cantidad de dosis administrada. Además constataron un incremento de la producción de prostaciclina y tromboxano.

En estudios efectuados por Law en 1985 (540) y por Coggle y cols. en 1986 (541), en ratas irradiadas con rangos de dosis similares al empleado en nuestro trabajo, a partir de las tres semanas postirradiación se encuentra una elevación de la permeabilidad vascular pulmonar. Las proteínas del plasma inundan los linfáticos y alteran otros mecanismos de drenaje.

Todo lo anterior va en favor de las alteraciones encontradas en dicho órgano en ambas Series estudiadas.

Los animales supervivientes en la Serie sin administración de litio presentaron en un 38,4% moderada congestión vascular pulmonar y conservación del tejido linfoide de la submucosa bronquial. En un 42,3% presentaron focos pequeños y aislados de edema agudo, refuerzo de los tabiques interalveolares y disminución del tejido linfoide de la submucosa bronquial.

Los animales supervivientes en la Serie con administración de litio presentaron en un 43,5% ligero grado de fibrosis en tabiques interalveolares, discretos focos de atelectasia y enfisema y conservación de los nódulos linfoides de la submucosa bronquial. En un 56,5% presentaron focos pequeños y aislados de edema agudo, congestión en vasos de tabiques interalveolares y disminución del tejido linfoide de la submucosa bronquial.

Efectuado el estudio estadístico comparativo entre las alteraciones histológicas presentadas por los animales supervivientes de las dos series, es significativamente mayor el porcentaje de presentación de focos de edema agudo con las alteraciones acompañantes en la Serie con administración de litio. Por lo tanto a este nivel no se observan diferencias a su favor.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 45,8% focos pequeños y aislados de edema agudo, refuerzo de tabiques interalveolares y

deplección intensa del componente linfoide de la submucosa bronquial. El 29,1% presentó focos difusos de edema agudo que ocupaban casi todo el parénquima, focos de atelectasia y enfisema, denudación parcial de la mucosa bronquial y ausencia de tejido linfoide en la submucosa bronquial.

Los animales muertos de la Serie con administración de litio presentaron en un 22,2% focos pequeños y aislados de edema agudo y deplección intensa del componente linfoide de la submucosa bronquial. Un 70,3% presentó fibrosis intersticial a nivel de tabiques interalveolares, focos difusos de edema agudo que ocupaban gran parte del parénquima, focos de atelectasia y enfisema, denudación parcial de la mucosa bronquial y desaparición del tejido linfoide en la submucosa bronquial.

Efectuado el estudio estadístico comparativo entre las alteraciones histológicas presentadas por los animales muertos de las dos series estudiadas, la Serie con administración de litio presenta un desplazamiento hacia la gravedad de la afectación con un porcentaje superior, estadísticamente significativo, de presentación de lesiones más graves. No se observa efecto beneficioso atribuible a la administración de litio.

Creemos que los hallazgos de focos generalizados de edema agudo de pulmón de los animales muertos va en

consonancia con la posible causa última de la muerte que ha podido ser por shock hemodinámico.

La LDH como posible enzima indicadora de alteraciones a este y otros niveles presentó, tanto en la Serie sometida a ICT con 912 Gy como en la Serie con administración de litio previa a la ICT, una elevación significativa de la media y la varianza en comparación con la Serie control, aunque comparativamente la Serie con administración de litio presentó una elevación significativamente menor que la Serie sin administración de litio.

4.2.6.- APARATO CIRCULATORIO.

En lo que al Corazón se refiere, nuestro estudio no ha demostrado alteraciones histológicas en ninguna de las dos Series a dicho nivel tras el período de observación clínica, aunque las dos Series presentaron una disminución estadísticamente significativa respecto a la Serie control en cuanto a la media y la varianza del peso del órgano. Efectuada una comparación entre ellas, no varía la media del peso aunque en la Serie con administración de litio exista una dispersión de los datos que se traduce en un aumento de la varianza con respecto a la Serie sin administración de litio. Todo lo anterior puede ser debido a que para dosis más elevadas que las administradas en nuestra experiencia es necesario un período más dilatado de observación hasta la aparición de alteraciones

histológicas, como apuntan Moss y Brand en 1973 (542). Después de efectuar un estudio retrospectivo en pacientes que recibieron irradiación en la zona cardíaca, dichos autores especificas que para dosis entre 50 y 60 Gy el tiempo de aparición de pericarditis aguda es entre cinco y seis semanas postirradiación y entre seis meses y varios años para la aparición de pericarditis crónica.

A nivel cardíaco la alteración fisiológicamente más importante es la debida a la hipertensión secundaria a las lesiones vasculares como expusieron Karpova y cols. en 1987 (543) tras un estudio en el que se valoraron los cambios hemodinámicos y en el ECG producidos en perros tras someterlos a ICT con fotones gamma.

Según señalaron Ul'ianenko y cols en 1987 (544) las actividades enzimáticas intracelulares del músculo cardíaco, entre otros, están dismiuidas. En nustro estudio existe una disminución estadísticamente siginicativa respecto a la Serie control en cuanto a los valores de la CPK. Efectuado estudio comparativo entre las dos Series, no existe diferencia en cuanto a la media y se produce, en la Serie con administración de litio, una tendencia al agrupamiento de los datos que se traduce en una varianza significativamente menor que en la Serie sin administración de litio.

4.2.7.- APARATO DIGESTIVO Y ORGANOS ANEJOS.

1)GLANDULAS SALIVALES.

En las dos Series estudiadas se observa una disminución estadísticamente significativa de las medias de los pesos con respecto a la Serie control. Además las varianzas no son significativamente diferentes en la Serie sometida a ICT con 912 cGy mientras que es significativamente mayor, traduciendo una dispersión de datos en la Serie con administración de litio previa a la ICT.

Estos resultados concuerdan con los de Rice y cols (545) que en 1982 notificaron el hallazgo de disminuciones en el peso glandular y los parámetros funcionales, a partir de los ocho días postirradiación, en ratas sometidas a irradiación gamma con dosis que oscilaron alrededor de los 18 Gy.

En nuestra experiencia no se encontró alteración histológica alguna en ninguna de las dos Series lo que contradice en parte los resultados anteriores, pero que viene apoyado en primer lugar por la experiencia de Schneyer en 1987 (546) que demostró que la disminución del peso de las glándulas salivares en ratas gammairradiadas no tiene necesariamente como consecuencia la disminución de su capacidad secretora.

En efecto, estudios funcionales como el de Van Den Brenk y cols. en 1972 (547) demuestran que la síntesis proteica en la glándula salival de la rata es relativamente

radioresistente para dosis superiores a los 10 Gy.

Efectuado el estudio comparativo entre las dos Series encontramos que, en la Serie con administración de litio previa a la ICT, la media y la varianza del peso glandular son significativamente menores que en la Serie sin administración de litio. Por lo tanto en la Serie con administración de litio los valores del peso glandular, a pesar de que son significativamente diferentes que los de las Serie control, se acercan más a los valores de esta última que los de la Serie sin administración de litio.

Esto último podría justificarse por el hecho de que el litio una vez administrado se concentra y se distribuye en la saliva (466) y desarrollaría mejor en este órgano su posible efecto radioprotector, aunque la carencia de alteraciones histológicas a este nivel en las dos Series dificulta la plena constatación de esta hipótesis. Creemos necesarios estudios a nivel ultraestructural para confirmarla.

2)ESOFAGO.

No se han encontrado alteraciones histológicas en ninguna de las dos Series. Tampoco se encontraron en los animales que presentaron ulceraciones y hemorragias en otras partes del aparato digestivo. Creemos que podría deberse a que el tiempo transcurrido desde la irradiación ha permitido la reparación de la lesión inflamatoria producida en su mucosa

predominantemente en las primeras horas postirradiación, tal como señalan Buell y cols. en 1989 (548).

3)ESTOMAGO.

En cuanto al peso las dos Series presentaron una disminución estadísticamente significativa de las medias y un aumento igualmente significativo de las varianzas con respecto a la Serie control.

Efectuado el estudio comparativo entre ambas Series no se ha encontrado diferencias significativas entre sus respectivos valores.

Los animales supervivientes en la Serie sin administración de litio presentaron en un 42,3% unas lesiones hiperqueratósicas, papilomatosas del epitelio plano conteniendo pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo que afectaban a la zona glandular proximal epidermizada.

Los animales supervivientes en la Serie con administración de lito presentaron lesiones del mismo tipo en un porcentaje del 52,1%.

Efectuado el estudio estadístico comparativo entre las alteraciones histológicas presentadas por los animales supervivientes de las dos series no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas en cuanto a los porcentajes de presentación, por lo que no encontramos mejoría

atribuible a la administración de litio.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 58,3% lesiones hiperqueratósicas excrecentes del epitelio plano con pseudoquistes de contenido queratinoso o exudativo situadas en la zona glandular proximal epidermizada, que se acompañaban de desaparición del infiltrado linfocitario de la lámina propia de mucosa y submucosa y en un 12,5% una disminución del grosor de los pliegues gástricos.

Los animales muertos de la Serie con administración de litio presentaron en un 59,2% las lesiones hiperqueratósicas descritas anteriormente, acompañadas asimismo de ausencia del infiltrado linfocitario de la lámina propia de mucosa y submucosa y en un 37% presentaron erosiones en la mucosa.

Efectuado el estudio estadístico comparativo entre las alteraciones histológicas presentadas por los animales muertos de las dos series estudiadas, no existía diferencia significativa en cuanto a la presentación de lesiones hiperqueratósicas entre las dos Series y , en cambio, existía un porcentaje significativamente superior de presentación de erosiones en la mucosa en la Serie con administración de litio. No podemos constatar pues una menor afectación atribuible a la administración de litio, antes bién lo contrario en cuanto a

patología ulcerosa se refiere.

Breiter y cols. en 1989 (549), tras efectuar un estudio en ratas hembras Wistar/Neuherberg, constatan la existencia de dilatación gástrica y reemplazamiento de la mucosa por epitelio escamoso hiperqueratósico para rangos de dosis entre 14 y 28,5 Gy de irradiación gástrica selectiva. En algunos casos se observaban en las zonas no afectas erosiones en la mucosa. Pensamos que en nuestra experiencia la patogenia es similar. Dichos autores atribuyen a los cambios agudos postirradiación, como son dilatación gástrica, retardo en el vaciamiento gástrico e incluso suspensión del mismo, y a la caquecisia y deshidratación subsiguientes, la causa de las muertes ocurridas entre las 2 y 3 semanas postirradiación.

Por otra parte, no hay que olvidar, como puntualizan Man y cols. en 1986 (550), que desde el punto de vista funcional la irradiación del mediastino produce una elevación de los efectos histamínicos sistémicos, lo que favorece la aparición de úlceras digestivas.

4) INTESTINO.

Montagna y Wilson en 1955 (551) observaron que, consecuentemente a la gran radiosensibilidad del epitelio del intestino delgado, en ratones sometidos a ICT con rangos de dosis entre 5 y 10 Gy, a las 24 horas siguientes a la irradiación las células mitoticamente activas de las criptas

intestinales mostraban una destrucción máxima reepitelizándose completamente a las 96 horas. Las alteraciones tardías consisten en una fibrosis tardía asociada a edema, ulceraciones en la mucosa y obstrucción intestinal.

Las mismas conclusiones extraen Thames y cols. en 1981 (552) quienes encuentran denudación de las vellosidades intestinales lo que favorece la aparición de úlceras. También lo constatan Kamel y cols. en 1988 (553) entre los días primero y noveno postirradiación.

Comparativamente, de todo el intestino es el delgado proximal donde las lesiones son más floridas y en el distal y en el grueso la respuesta es menor, como observan Moss y Brand en 1973 (554).

En nuestra experiencia los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentan en un 100% una disminución del grosor de las vellosidades intestinales. El mismo porcentaje presentan los supervivientes de la Serie con administración de litio. En ningún animal superviviente de las dos Series estudiadas se observaron alteraciones en el intestino grueso.

No existe pues diferencia significativa en cuanto a alteraciones a nivel intestinal entre los animales supervivientes de las dos Series. La persistencia de disminución del grosor de las vellosidades al cabo de treinta

días postirradiación podría indicar el inicio de alteraciones tardías a dicho nivel aunque no podemos constatar la aparición de las mismas al final de nuestro período de observación.

En intestino delgado los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 91,6% disminución en el grosor de las vellosidades y en un 33,3% ulceraciones en mucosa. En intestino grueso un 33,3% presentó ulceraciones en mucosa.

Los animales muertos de la Serie con administración de litio presentaron en intestino delgado un 37% de disminución del grosor de las vellosidades y en un 44,4% se observó la presencia de ulceraciones en la mucosa. En intestino grueso un 37% presentó ulceraciones.

Efectuado el estudio estadístico comparativo entre las alteraciones histológicas presentadas por los animales muertos de las dos series estudiadas, vemos que la única diferencia estadísticamente significativa existente es el menor porcentaje de disminución de grosor de las vellosidades en la Serie con administración de litio.

Si observamos las posibles alteraciones de los iones sanguíneos que traducirían las lesiones producidas en la mucosa y las pérdidas por diarreas veremos que en ninguna de las dos Series se han encontrado disminuciones estadísticamente significativas en las medias de Sodio (NA), Potasio (K) y

Fosfatos (P04) respecto a la Serie control. Extremo que persiste una vez efectuado el estudio comparativo entre las dos Series, mostrando unicamente la Serie con administración de Litio una varianza disminuida con respecto al potasio y a los fosfatos, que traduce un agrupamiento de los valores, y aumentada en el caso del sodio, lo que traduce una dispersión de los mismos.

5) HIGADO.

Existe una disminución significativa del peso en las dos Series, aumentando de igual forma la varianza con respecto a la Serie control, sin que se observen diferencias significativas entre ellas tras el estudio estadístico practicado.

Los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron en un 19,2% congestión vascular de predominio centrolobulillar. En la Serie con administración de litio lo presentaron un 39,1% de los animales supervivientes.

Vemos pues que a este nivel la administración de litio no ha supuesto mejoría alguna ya que el porcentaje de animales que presentan congestión vascular es significativamente mayor que el presentado cuando no se administra.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 54% signos de

congestión con dilatación de las venas centrolobulillares. En la Serie con administración de litio el porcentaje de presentación es muy similar encontrándose en un 55,5% de los animales muertos. Sin embargo en otro 37% del total se observó además que los signos de congestión se acompañaban de esteatosis de gota pequeña y mediana de predominio centrolobulillar, con lo que el porcentaje de alteraciones también es estadísticamente superior en la Serie con administración de litio.

De acuerdo con nuestros resultados no puede hablarse de efecto radioprotector del litio a este nivel.

Este órgano podría afectarse de atrofia y fibrosis debido a que está muy vascularizado, como afirma Hopewell en 1980 (555). Además este órgano se ve sometido a una mayor demanda funcional los primeros días postirradiación por lo que se podría esperar un aumento de peso.

Debido a la mala discriminación de la detección de bilirrubina (TBIL) no se consideró oportuno realizar contraste de hipótesis.

Seifullin y cols. en 1986 (556) tras la irradiación de distintos animales, encontraron para dosis a partir de 6 Gy alteraciones de las pruebas funcionales hepáticas con signos de degeneración grasa que hemos encontrado en nuestra experiencia.

Asimismo nuestros resultados confirman los publicados por Fajardo y cols. en 1988 (557) en los que afirman que la primera afectación morfológica detectable del hígado se sitúa en las células más cercanas a las estructuras venosas dado que están peor irrigadas.

La Serie sin administración de litio presentó una elevación significativa de la GOT con respecto a la Serie control, dato que no se repitió en la Serie con administración de litio, siendo las varianzas más bajas en las dos series. Comparativamente los valores medios y la varianza fueron estadísticamente menores en la Serie con administración de litio.

Respecto a la GPT no existió elevación significativa de los valores medios en las dos Series respecto a la Serie control aunque si lo fué la elevación de la varianza. Comparativamente los valores medios y la varianza fueron significativamente mayores en la Serie con administración de litio.

6) PANCREAS.

Existe un aumento significativo de los valores medios del peso del órgano en las dos Series estudiadas respecto a la Serie control. Lo mismo ocurre con las varianzas. Comparativamente no existe diferencia significativa en cuanto a los valores medios del peso entre ambas Series, aunque en la

Serie con administración de litio existe un agrupamiento de los valores que se traduce en una varianza significativamente menor con respecto a la Serie sin administración de litio.

Esta elevación de peso podría ser debida por una parte al fuerte stress producido por la manipulación e irradiación de los animales y por otra a la traducción de la sobrecarga funcional postirradiación para neutralizar la hiperglucemia producida tras la irradiación que, como afirman Steadman y Grimaldi en 1951 (558), es neutralizada facilmente por la insulina.

El tipo celular más sensible a la radiación son las células acinares, posteriormente las más afectadas son las células de los islotes como mencionan Du Toit y cols. en 1987 (559) y Ahmadu y cols. en 1988 (560). Para estos últimos puede llegar a producirse necrosis mixtas de las células de los islotes y de las células acinares.

En nuestro estudio no encontramos alteración histológica alguna en ninguno de los animales de las dos Series estudiadas.

Los valores de Insulina (INS) son significativamente mayores en las dos Series respecto a la Serie control en la que fué indetectable, tanto en cuanto a los valores medios como a las varianzas, dato que no coincide con el estudio anteriormente citado de Du Toit y cols. en 1987. Por

otro lado la Glucosa (GLU) no presenta valores medios estadísticamente distintos con respecto a la Serie control en ninguna de las dos Series estudiadas aunque existe una dispersión de los valores que se traduce en una varianza significativamente más elevada en la Serie sin administración de litio. Comparativamente, los valores están significativamente más agrupados en la Serie con administración de litio.

Deeg y cols. en 1988 (493) encuentran fibrosis pancreática en perros tras ser sometidos a ICT con dosis de 10 Gy.

4.2.8.- SISTEMA GENITOURINARIO.

1) OVARIOS.

Ambas Series presentan una disminución estadísticamente significativa en cuanto al peso de los ovarios, respecto a la Serie control, como ya describieron Lacassagne y Gricoureff en 1956 (561). Asimismo las dos Series presentan una dispersión de datos respecto a la media que se traduce en un aumento significativo de la varianza. Tras el estudio comparativo no existen diferencias significativas entre los valores de las dos Series.

El ovario es uno de los órganos más radiosensibles. Los diversos tipos celulares responden de distinta forma a la irradiación. Asimismo la respuesta de un

tipo celular varía según el estado de maduración. El óvulo situado en un folículo joven es más susceptible que el situado en un folículo maduro. En el conejo se observa la destrucción de los folículos primarios después de una dosis única de 12 Gy mediante irradiación selectiva. Los residuos son fagocitados por las células granulosas que luego se desintegran por sí solas. Como señalan Lacassagne y Gricouroff en 1956 (561) el tiempo necesario para la completa desaparición del folículo oscila entre tres y cuatro días. Posteriormente, con las dosis mencionadas más arriba, los folículos supervivientes se recuperan y más tarde se reanuda el proceso de maduración.

Los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron en un 50% un descenso de la celularidad de la capa granulosa de las formaciones foliculares con descenso en el número de estas y atrofia del estroma específico. Además un 30,7% presentaron un gran descenso en el número de dichas formaciones que también se acompañaba de atrofia del estroma específico. En la Serie con administración de litio los porcentajes fueron del 78,3% y 21,7% respectivamente.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 82,6% una gran disminución del número de formaciones foliculares y atrofia del estroma específico. En la Serie con administración de litio el porcentaje fué del 96,2%.

Bacq y Alexander en 1963 (562), tras efectuar ICT a ratones hembras con una dosis de 9 Gy, constatan tras cinco meses postirradiación el hallazgo de ovarios completamente atrésicos y atrofia del tracto genital.

No son de extrañar, pues, los hallazgos de nuestro estudio tras administrar una dosis mayor y tras un menor tiempo de observación.

En vista de los resultados obtenidos no observamos ninguna mejoría atribuible a la administración de litio, antes bien se produce una mayor afectación en los animales de la Serie en la que se administró.

2)UTERO.

No se han encontrado alteraciones histológicas en ninguna de las dos Series estudiadas. Ello es debido a que se trata de uno de los órganos más radioresistentes como afirman Moss y cols. en 1973 (563) tras su experiencia acumulada en tratamientos de tumores ginecológicos.

3)RIÑONES.

Ambas Series presentan una disminución de peso estadísticamente significativa con una tendencia a la dispersión de datos que se traduce en una elevación de la varianza, todo ello respecto a la Serie control. Efectuado el estudio comparativo, no existen variaciones en cuanto al valor medio del

peso y en la Serie con administración de litio la varianza es estadísticamente menor con un agrupamiento de datos en torno a la media con respecto a la Serie sin administración de litio.

Como señaló Asscher en 1964 (564), la patología renal radioinducida se traduce clínicamente en un cuadro de hipertensión arterial que aparece al cabo de 90 días postirradiación en un grupo de ratas sometidas a irradiación renal selectiva con una dosis única de 1200 cGy. Dicho autor observó la aparición de hipergranulación citoplásmica de las células yuxtaglomerulares secretoras de renina.

Bottcher en 1986 (565) afirma que ya puede observarse alteraciones en el parénquima renal de ratas irradiadas a partir de 10 Gy. Hoopes y cols (566) afirman en 1985 que después de someter a perros a irradiación selectiva intraoperatoria mediante electrones, se observa una disminución del parénquima a partir de los 15 Gy.

En humanos, Madrazo y cols. describen en 1975 (567) la aparición de vasculitis con isquemia renal difusa tras largos períodos de latencia postirradiación.

Para autores como Caldwell en 1975 (568), desde el punto de vista fisiológico se produce un cuadro clínico de nefritis postirradiación. En nuestra experiencia, si observamos las posibles alteraciones de los iones sanguíneos relacionados con la actividad renal, veremos que en ninguna de las dos Series

se han encontrado disminuciones estadísticamente significativas en las medias de Sodio (NA), Potasio (K) y Fosfatos (P04) respecto a la Serie control. Extremo que persiste una vez efectuado el estudio comparativo entre las dos Series, mostrando unicamente la Serie con administración de Litio una varianza disminuida con respecto al potasio y a los fosfatos, que traduce un agrupamiento de los valores, y aumentada en el caso del sodio, lo que traduce una dispersión de los mismos.

Para Huang y cols. en 1954 (569), estudiando los efectos en el funcionalismo renal en ratas tras someterlas a ICT, la irradiación de un gran volumen hístico da lugar a un aumento del ácido úrico sérico, y los riñones pueden presentar hiperemia, edema y lesión tubular temporal. En estas circunstancias las pruebas de funcionalismo renal muestran un descenso transitorio en la función tubular. La vuelta a la normalidad suele ser rápida y sin secuelas. No obstante, si la función renal ya estaba alterada, esta lesión puede ser grave. En realidad, la destrucción masiva hística bajo estas circunstancias puede ser fatal.

En nuestra experiencia, los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron signos de congestión renal en un 19,2%. En la Serie con administración de litio presentaron estos signos un 30,4 % de los animales supervivientes.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron signos de congestión en un 33,3%, mientras que en la Serie con administración de litio los presentaron un 81,4% de los animales muertos.

Tampoco en este caso se observa mejoría en cuanto a los resultados en la Serie con administración de litio.

Para Jongejan y cols. en 1987 (570), una dosis de 9.8 Gy administrada en ratas produce un 25% de reducción de la filtración glomerular y Robbins y cols. describen en 1989 (571) una disminución del flujo efectivo renal. Lo anterior implicaría una teórica elevación de la Creatinina (CREA) y de la Urea (BUN) que no encontramos en nuestra experiencia en ninguna de las dos Series estudiadas. La única alteración observada ha sido una elevación estadísticamente significativa de los valores medios de la Urea en la Serie con administración de litio, con respecto a la Serie control. Efectuado el estudio comparativo entre las dos Series no se observó diferencia significativa entre las dos series.

Tampoco existe diferencia significativa en los valores de Acido úrico (UA) en las dos Series entre sí, ni con respecto a la Serie control.

Los valores medios de las proteínas en sangre (PRO), no están afectados en ninguna de las dos Series con respecto a la Serie control, ni entre sí. Únicamente se observa

una varianza significativamente mayor en las dos Series estudiadas con respecto a la Serie control.

4)VEJIGA URINARIA.

No ha presentado alteraciones en cuanto al peso ni lesiones histológicas objetivables en ninguna de las dos Series. Debemos tener en cuenta que para dosis del rango de 30 Gy administrados en 4 semanas en humanos causarían únicamente reacciones mucosas de poca importancia como constató Wallace en 1959 (572), lo que ya se había observado en animales de experimentación, como por ejemplo en perros, por Hueper y cols. en 1942 (573).

No es extraño pues que para las dosis administradas en nuestra experiencia no se presenten alteraciones histológicas objetivables ya que de producirse serían poco importantes y al cabo del período de observación se habrían reparado completamente.

4.2.9.- SISTEMA LINFOHEMATOPOYETICO Y HEMATOLOGIA.

1)BAZO.

En las dos Series se ha presentado una disminución estadísticamente significativa del peso del órgano con respecto a la Serie control. Efectuado el estudio comparativo no se han encontrado diferencias en los valores medios de las dos Series, si bien la Serie con administración de litio presentaba una

varianza significativamente menor que la Serie sin administración de litio traduciendo un apuntamiento de los datos en torno a los valores medios.

Murray en 1948 (574) notifica un descenso de peso del órgano en conejos a las 24 horas siguientes a la irradiación con 8 Gy en dosis única.

Mackova y cols. en 1987 (575) informaron que al cabo de un período de tiempo de observación postirradiación oscilante entre 15 y 19 días, en ratones sometidos a irradiación en dosis única con 7 Gy, se producía un incremento del peso del bazo como consecuencia de la activación de la eritropoyesis extramedular. Nuestros resultados contradicen a estos últimos autores y pensamos que los datos distintos se deben por una parte a la inclusión en nuestras Series de pesos de todos los animales irradiados sin diferenciar a los supervivientes de los que murieron durante el período de observación.

Los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron en un 50% una atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja y en un 42,3% atrofia moderada del componente linfoide y presencia de abundantes hemosiderófagos. En la Serie con administración de litio los porcentajes de presentación fueron el 69,5% y el 8,6% respectivamente.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 25% atrofia ligera del componente linfoide y congestión de la pulpa roja, en un 29,1% atrofia subtotal del componente linfoide y abundantes hemosiderófagos y en un 41,6% una atrofia total del componente linfoide y presencia de abundantes hemosiderófagos.

Los animales muertos de la Serie con administración de litio presentaron en un 18,5% una atrofia subtotal del componente linfoide y abundantes histiocitos siderófagos y en un 74% atrofia total del componente linfoide y presencia de abundantes histiocitos siderófagos.

A la vista de los resultados anteriores observamos que en los animales supervivientes, la serie con administración de litio presentó unas alteraciones en menor grado. En cambio ocurrió todo lo contrario en los animales muertos ya que fué la Serie con administración de litio la que presentó mayores alteraciones.

2)TIMO.

Se trata de un órgano de tipo linfoide y consecuentemente, según apuntan los trabajos de Murray en 1948 (574), y de Kirillova y cols. en 1986 (576), deberíamos encontrarlo disminuido de tamaño, premisa que se cumple en nuestra experiencia. Encontramos unos valores medios de peso del órgano disminuidos de forma estadísticamente significativa en

las dos Series estudiadas.

En el trabajo de Kirillova y cols., encontraron involuciones de este órgano a partir de dosis de 3 Gy.

Los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron en un 92% disminución discreta del componente linfoide. En la Serie con administración de litio dicho porcentaje fué el 100%.

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 21,7% disminución discreta del componente linfoide y en un 69,5% disminución intensa del componente linfoide. En la Serie con administración de litio los porcentajes de presentación fueron de 61,5% y de 26,9% respectivamente.

En los animales vivos el porcentaje de afectación fué mayor en la Serie con administración de litio, mientras que fué menor en los animales muertos.

3)MEDULA OSEA.

Para autores como Hayashi y cols. en 1986 (577), en los primeros días postirradiación se empieza a producir una aplasia medular debida a una degeneración necrótica de células endoteliales y reticulares y una hemorragia debida a una separación de la membrana basal de las células endoteliales en los días primero y segundo postirradiación.

Nuestros resultados concuerdan con los de Sedlakova y cols. en 1986 (578) cuando afirman que los espacios dejados por las células madre muertas se ocupan por tejido adiposo.

Esta alteración según afirman autores como Hayashi y cols en 1986 (577) y Du Toit y cols en 1987 (559) se produce en los primeros días postirradiación.

Bloom en 1948 (579), tras un estudio de las alteraciones producidas en la médula ósea del conejo una vez sometidos a ICT con 3,5% Gy, especifica que a la media hora postirradiación se observa una supresión de las mitosis en la médula ósea. En este momento los elementos nucleados de la serie roja han empezado ya a disminuir y predominan las formas maduras. De manera progresiva, el número de células muertas en la médula aumenta principalmente a expensas de la serie roja. El recuento de granulocitos disminuye pero en menor grado. Durante estas primeras horas, los megacariocitos permanecen normales en número y aspecto, pero a los dos días postirradiación han desaparecido. Bloom observó que rellenando los espacios dejados por las células destruidas se formaba una médula "gelatinosa". El recuento de las células nucleadas de la serie roja desciende a su valor mínimo en las primeras 24 horas postirradiación, mientras que el recuento de mielocitos continua descendiendo durante nueve días. La repoblación de la médula se inicia entre los 10 y 14 días postirradiación y es completa, con

células normales, a los 41 días postirradiación.

En nuestra experiencia el 95,8% de los animales muertos en la Serie sin administración de litio y el 100% de los animales muertos en la Serie con administración de litio, presentaban una aplasia medular completa y sustitución del tejido hematopoyético por tejido graso maduro independientemente de la fecha de su muerte, lo que indica que estos animales no presentaron recuperación a este nivel.

Los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron en un 23% una ligera deplección del tejido hematopoyético medular sustituido por tejido graso maduro y en un 7,6% se observaban unicamente focos aislados de tejido hematopoyético estando asimismo el resto ocupado por tejido graso.

Los animales supervivientes de la Serie con administración de litio presentaron en un 56,5% ligera deplección del tejido hematopoyético que se sustituía por tejido graso maduro.

En ningún animal de las dos Series estudiadas se observó la presencia de fibrosis reactiva.

Pensamos que en el caso de los animales vivos al final del período de observación estaría produciendose un fenómeno de regeneración y recuperación postirradiación de las

células madre hematopoyéticas supervivientes a la irradiación y que las diferencias encontradas en la Serie sin administración de litio serían debidas a distintos estadios evolutivos de dicha recuperación. Dicha recuperación no la atribuimos a la administración de litio, aunque la gravedad de afectación fué menor en la Serie que se administró ya que, en un trabajo aparecido recientemente y efectuado por Kehrberg en 1991 (580), se demuestra que, en humanos sometidos a tratamientos radioterápicos, el lito actúa sobre la médula ósea no irradiada estimulando la granulocitopoyesis pero su actuación sobre la médula ósea irradiada es nula.

4)HEMATOLOGIA.

Según los trabajos de Behrens y cols en 1972 (581), para dosis similares a las empleadas en nuestra experiencia y tras un período de observación de un mes, los hematíes tienden a disminuir. Previamente se produce una disminución de reticulocitos.

En nuestra experiencia no se ha podido efectuar determinaciones de reticulocitos, pero encontramos en concordancia con lo anterior una disminución en los valores medios de hematíes (RBC) en las dos Series con respecto a la Serie control sin que presenten valores significativamente distintos efectuado el estudio comparativo entre ellas.

No existe sin embargo variación estadísticamente

significativa en los valores medios de hemoglobina (HB) y de hematocrito (HCT) en ninguna de las dos Series estudiadas con respecto a la Serie control ni entre si una vez efectuado el estudio comparativo. Unicamente presentan una elevación de las varianzas con respecto a la Serie control.

En cuanto a la concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), la hemoglobina corpuscular media (MCH) y el volumen corpuscular medio (MCV), solo pudieron determinarse en la Serie sin administración de litio y sus valores no diferían con los de la Serie control si exceptuamos a los de el volumen corpuscular medio que estaba elevado de forma estadísticamente significativa.

En todos los parámetros anteriores existe una mayor dispersión de datos con respecto a la Serie control que se traduce en una elevación de sus varianzas significativa.

En lo que respecta al hierro (IRON), las dos Series estudiadas han presentado una disminución de sus valores medios y una elevación de sus varianzas respecto a la Serie control, contrariamente a lo señalado por Balcells en 1979 (582) quien notifica la producción de hipersideremia por hemolisis. Todo ello a pesar que en un alto porcentaje de animales se ha encontrado en bazo un aumento de la presencia de hemosiderófagos. Efectuado el estudio comparativo, la Serie con administración de litio presentaba unos valores medios significativamente superiores con una disminución de varianza

con respecto a la Serie sin administración de litio.

Los valores medios de leucocitos (WBC) no muestran variación en ninguna de las dos Series estudiadas con respecto a la Serie control ni entre sí. La Serie sin administración de litio presenta un aumento significativo en los segmentados (SEG) y una disminución significativa de los linfocitos (LYMPH). Estos resultados concuerdan solo en parte con los publicados por Kahn y cols en 1952 (583), Perez Modrego y cols. en 1965 (584), Behrens y cols. en 1972 (581) y Guiot y cols. en 1988 (585), debido a que en todos ellos se objetiva una disminución de los valores medios de leucocitos que no encontramos en nuestra experiencia.

En el caso de la Serie con administración de litio podría ser debido a una mayor recuperación ya que, además no presentan variación con respecto a la Serie control los valores de segmentados (SEG) y linfocitos (LYMPH).

En las dos Series estudiadas no muestran variación respecto a la Serie control ni entre sí los valores de monocitos (MONO), en banda (BAND) y eosinófilos (EOSIN).

No hemos encontrado la presencia de micronúcleos en los linfocitos de sangre periférica, como señalaron Countrymon y cols. en 1976 (586), aunque no se ha realizado estudio pormenorizado a este respecto.

4.2.10.- GLANDULAS ENDOCRINAS Y METABOLISMO.

1)ORGANOS GLANDULARES ENDOCRINOS.

1a)HIPOFISIS.

No se han encontrado alteraciones histológicas ni en cuanto al peso a nivel hipofisario en ninguna de las dos Series estudiadas.

1b)TIROIDES.

La Serie sin administración de litio no presentó alteración alguna en cuanto al peso del órgano con respecto a la Serie control, lo que concuerda con resultados como los de Holten en 1983 (587) que destaca la radioresistencia de la glándula tiroidea a dosis medias de radiación. En cambio la Serie con administración de litio presentó una disminución estadísticamente significativa de su peso tanto con respecto a la Serie control como con respecto a la Serie sin administración de litio.

Estas alteraciones de peso se correspondieron con alteraciones analíticas. Mientras que en la Serie sin administración de litio no presentaron variaciones significativas los valores medios de T3, T4, T4 libre y TSH con respecto a la Serie control, la Serie con administración de litio presentó una disminución estadísticamente significativa de los valores de T3, T4 y T4 libre y un aumento estadísticamente

significativo del valor de TSH tanto con respecto a la Serie control como con respecto a la Serie sin administración de litio.

Asimismo las alteraciones anteriores tuvieron correspondencia a nivel histológico como se verá a continuación.

Los animales supervivientes de la Serie sin administración de litio presentaron en un 26,9% una disminución del contenido de coloide, descenso de la celularidad y tendencia del epitelio folicular a desprenderse hacia las luces foliculares. En la Serie con administración de litio la alteración fué mayor y todos los animales presentaron bastantes folículos vacíos y tirocitos de aspecto cúbico aplanado o bajo. Se observaron además imágenes de franca atrofia folicular (arrugamiento circunferencial de la disposición folicular central).

Los animales muertos de la Serie sin administración de litio presentaron en un 26% disminución del contenido de coloide y celularidad de menor tamaño de lo habitual.

Los animales muertos de la Serie con administración de litio presentaron alteraciones en su totalidad y estas fueron en un 34,6% la presencia de bastantes folículos vacíos, los tirocitos de aspecto cúbico aplanado o bajo y cierto arrugamiento circunferencial de la disposición folicular

central. Además el 65,4% restante presentaba áreas de gran atrofia del epitelio folicular con células histiocitarias ocupando gran parte de las pseudoluces que deberían estar ocupadas por coloide.

Creemos que las grandes diferencias de afectación entre las dos Series son debidas a que se produce un sinergismo a nivel tiroideo entre los efectos del litio y los de la radiación ya que ninguno de los dos, a las dosis administradas, justificaría por si solo la aparición de las alteraciones anteriormente citadas. Como afirman Goodman y cols. en 1985 (588), se conoce que, en ratas, el litio ejerce un efecto antitiroideo. El ión inhibe la actuación de la tirotrófina de la adenilciclase tiroidea, pero esta alteración se observa en animales a los que se ha administrado litio de forma crónica.

Por lo tanto hemos de constatar que según nuestros resultados el litio no ejerce efecto radioprotector a nivel tiroideo, antes bien parece actuar como radiosensibilizante.

No hemos encontrado en la literatura revisada ninguna comunicación a este respecto por lo que creemos que se trata de un hallazgo que justificaría la realización de estudios posteriores en este sentido, y que en caso de confirmarse obligaría a replantear la indicación del tratamiento con litio para la recuperación de las leucopenias producidas en pacientes sometidos a tratamientos quimioterápicos que vayan a ser o estén siendo sometidos a tratamientos radioterápicos.

De confirmarse, tendría importantes repercusiones especialmente en cuanto al tratamiento de los pacientes que requieren tratamiento simultáneo o consecutivo quimio-radiotrápico con irradiación de la localización anatómica tiroidea como son algunos de los afectos de tumores de cabeza y cuello en los cuales debería recurrirse a otros medios estimuladores de la linfopoyesis debido a la posible toxicidad iatrogénica.

1c) SUPRARRENALES.

No se observa variación estadísticamente significativa en cuanto a la media de los pesos orgánicos entre los animales de las dos Series estudiadas.

No se encontraron alteraciones histológicas valorables en las dos Series exceptuando signos de congestión en el 22,2% de los animales muertos en la Serie con administración de litio.

Mizina y cols. en 1986 (589) describen que los glucocorticoides aumentan en sangre las primeras horas postirradiación normalizándose después. Concordantemente, en nuestra experiencia al cabo de 30 días postirradiación no encontramos variaciones en los niveles de cortisona (CORT) en ninguna de las dos Series estudiadas con respecto a la Serie control ni entre sí.

La aldosterona (ALD) tampoco presenta variación significativa entre las dos Series estudiadas aunque los valores medios de la Serie con administración de litio son menores que los de la Serie control.

2)METABOLISMO.

La glucemia (GLU) no está alterada significativamente en ninguna de las dos Series estudiadas con respecto a la Serie control ni entre sí.

Lo mismo ocurre con los valores de colesterol (CHOL) y triglicéridos (TRIG) lo que concuerda con lo descrito por varios autores como Kolomiitseva en 1986 (590) y Stepanov y cols. en 1989 (591) en el sentido que se produce una activación de la colesterogénesis, en ratas irradiadas con diferentes niveles de dosis, y normalización lipídica a las pocas horas. La traducción sanguínea de estas alteraciones sería una elevación de fosfolípidos y triglicéridos que remite posteriormente.

Para rangos de dosis similares a los empleados en nuestro estudio, Konnova y cols. en 1989 (592) describen una gran proteólisis en los primeros días postirradiación. En nuestro estudio y probablemente debido al tiempo de observación postirradiación prolongado no encontramos alteraciones significativas en los valores medios de las proteínas totales (PRO) en ninguna de las dos Series estudiadas con respecto a la

Serie control ni entre sí. Lo mismo ocurre con los valores de albúmina (ALB) que no han mostrado alteraciones significativas.

Asimismo los valores de ácido úrico (UA) tampoco han mostrado alteraciones significativas en las dos Series estudiadas.

En cuanto a la LDH, las dos Series han mostrado una elevación estadísticamente significativa de sus valores medios y de sus varianzas con respecto a la Serie control. Efectuado el estudio comparativo, la Serie con administración de litio presentó una elevación significativamente menor de estos valores con respecto a la Serie sin administración de litio.

3) SISTEMA MUSCULOESQUELETICO.

La fosfatasa alcalina (PA) muestra una elevación significativa de sus valores medios y varianzas, respecto a la Serie control, en la dos Series estudiadas, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Elkina y cols. en 1986 (593).

Efectuado el estudio comparativo, la Serie con administración de litio presenta una elevación de los valores anteriores significativamente menor que la Serie sin administración de litio.

El calcio (CA) no muestra alteraciones significativas entre las dos Series estudiadas entre sí, aunque con respecto a la Serie control sus varianzas sean significativamente mayores.

5.- CONCLUSIONES

5.- CONCLUSIONES.

1.*

El resultado en términos de supervivencia obtenido con la Dosis Letal 50/30 calculada para nuestras condiciones experimentales (912 cGy), no ha sido significativamente distinto al que se obtendría con la Dosis Letal 50/30 ideal. Pensamos, por tanto, que el método Cubic Spline es aplicable para estos cálculos aunque no se haya empleado con anterioridad.

2.*

Los signos clínicos presentados por los animales de experimentación han sido uniformes aunque pobres, lo que desaconseja a nuestro juicio el empleo de la rata wistar para estudios que precisen evaluación de signos clínicos tras la Irradiación Corporal Total.

3.*

El citrato de litio administrado a razón de 162 mg/Kg en dosis única, previamente a la Irradiación Corporal Total, no ha tenido influencia en cuanto a la supervivencia y, por tanto no ha tenido efecto radioprotector a este nivel.

4.*

Los resultados obtenidos indican que los animales supervivientes de la Serie con administración de litio presentaban una recuperación más acelerada a nivel de médula ósea hematopoyética, aunque el porcentaje de afectación sea mayor. Ello se tradujo en la ausencia de diferencias en las cifras de segmentados y linfocitos respecto a la Serie control. En lo que a los animales muertos de la Serie con administración de litio se refiere, la afectación de la médula ósea era completa y en todos ellos. Pensamos que todo lo anterior confirma los resultados obtenidos por Kehrberg en 1991, en el sentido de que el litio actúa únicamente sobre la médula ósea no afectada por la irradiación.

5.*

Asimismo, en bazo, los animales supervivientes de la Serie con administración de litio presentaron unas alteraciones menos marcadas. Los animales muertos de la misma Serie, en cambio, fueron los que presentaron mayores alteraciones. Pensamos que el mecanismo de actuación del litio a este nivel sería similar al de la médula ósea en el sentido que solo favorece la recuperación si las lesiones postirradiación no son irreversibles.

6.*

No se constató efecto alguno de la administración de litio a nivel de encéfalo, ojos, glándulas lagrimales, corazón, glándulas salivares, esófago, páncreas, vejiga urinaria, timo y glándulas suprarrenales.

7.*

La Serie con administración de litio presentó alteraciones ligeramente superiores a nivel pulmonar, gástrico, intestinal, hepático y renal cuya patogenia no esdtá clara a nuestro entender ya que no se han descrito efectos secundarios del fármaco a dichos niveles.

8.*

A nivel tiroideo, en cambio, nuestros resultados indican que se produce un sinergismo claro e importante de los efectos secundarios antitiroideos del litio y la radiación. Por una parte existe a nivel histológico una diferencia claramente significativa en cuanto a la cantidad de animales afectados y a la gravedad de las lesiones y, por otra, existe una correspondencia con los datos analíticos. Todo lo anterior se traduce en la instauración de un cuadro analítico de hipotiroidismo. Ni las dosis de litio administradas ni las de radiación justificarían por separado la aparición de dichas lesiones, por lo tanto,

según nuestros resultados, el litio actuaría a nivel tiroideo como radiosensibilizante.

9.*

Los resultados obtenidos justificarían plenamente a nuestro juicio la realización de estudios posteriores debido por una parte a la ausencia de comunicaciones a este respecto, por otra a que, de confirmarse estos resultados, debería suprimirse el uso de litio como estimulador de la linfopoyesis, en pacientes sometidos a tratamientos radioterápicos que precisaran irradiación de la zona anatómica tiroidea debido a la posible toxicidad yatrogénica a este nivel y, por último, debido a su posible utilidad como tratamiento adyuvante al ^{131}I en la ablación de los restos tiroideos y de las metástasis yodocaptantes del Carcinoma folicular, papilar y mixto (folículo-papilar) de tiroides.

6.- RESUMEN

6.- RESUMEN.

La investigación sobre compuestos potencialmente radioprotectores presenta un doble interés. En primer lugar respecto a la protección de los trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes, tanto para profilaxis de los efectos biológicos secundarios a dicha exposición como para su empleo en operaciones especiales de manipulación y transporte de sustancias radiactivas y en situaciones de especial riesgo de incidente/accidente radiactivo. En segundo lugar por su potencial aplicación en pacientes diagnosticados de cancer que requieran tratamiento radioterápico ya que las dosis a administrar se encuentran limitadas en muchas ocasiones por la tolerancia de los tejidos sanos.

Hemos realizado una experiencia para valorar el efecto radioprotector del litio en la rata wistar. Para ello ha sido necesario en primer lugar calcular la Dosis Letal 50/30 para nuestras condiciones de trabajo que ha quedado fijada en 912 cGy. Posteriormente se ha sometido a Irradiación Corporal Total con dicha Dosis, mediante una unidad de Co^{60} , a dos Series de cincuenta animales cada una. A una de las dos Series se le administró previamente a la irradiación una dosis única de 162 mg/Kg de peso de citrato de litio mediante inyección intraperitoneal.

Se ha constatado que la dosis de litio administrada no ha tenido efecto radioprotector en cuanto a la supervivencia de los animales de experimentación. Por otra parte los datos obtenidos sugieren que la administración de litio favorece una más rápida recuperación de la médula ósea hematopoyética que no ha sido dañada irreversiblemente por las radiaciones ionizantes.

A nivel tiroideo, los resultados obtenidos indican un sinergismo claro entre los efectos secundarios antitiroideos del litio y la radiación, por lo tanto a nivel tiroideo el litio actuaría como radiosensibilizante provocando la aparición de un cuadro de hipotiroidismo.

Creemos necesario estudios posteriores en este sentido ya que la repercusión en los pacientes sometidos a tratamientos radioterápicos, que requieren irradiación de la localización anatómica tiroidea, sería importante en el sentido de que debería suprimirse el empleo de compuestos de litio como estimuladores de la linfopoyesis por la posible toxicidad yatrogénica y, por otra parte, debería investigarse su posible utilidad como adyuvante del ^{131}I en el tratamiento ablativo de los restos tiroideos y de las metástasis yodocaptantes del Carcinoma folicular, papilar y mixto (foliculo-papilar de tiroides).

7.- BIBLIOGRAFIA

7.-BIBLIOGRAFIA.

1*

HALL,E.J.: Radiobiology for the Radiologist. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.1988.pp.202.

2*

BARRON,E.S.G.: Thiol groups of biological importance. Adv. Enzymol..1946.11:201-266.

3*

PATT,H.,TYREE,E.B.,STRAUBE,R.: Cysteine protection against X-irradiation. Science. 1949.110:213-215.

4*

BACQ,Z.M.,HERVE,A.,LECOMPTE,J.,FISHER,P.,BLAVIER,J.,DECHAMPS,G., LeBIHAN,H.,RAYET,P.: Protection contre le rayonnement X par la B-mercato-éthylamine. Arch. Inter. Physiol..1951.59:442-447.

5*

WEISS,J.F.,SIMIC,M.G.: Perspectives in radiotherapy.Pharmac. Ther.. Pergamon Press,Oxford.1988.39:1.

6*

SWEENEY,T.R.: A survey of Compounds from the Antiradiation Drug Development Program of the U.S. Army Medical Research and Development Command. Walter Reed Army Institute of Research. Washington,D.C..1979.

7*

DAVIDSON,D.E.,GRENAN,M.M.,SWEENEY,T.R.: Biological characteristics of some improved radioprotectors. En: BRADY,L.W. (ed.): Radiation Sensitizers, their use in the clinical management of cancer. Masson Publishing,New York. 1980.pp.309-320.

8*

PIPER,J.R., STRINGFELLOW,C.R., ELLIOT,R.T., JOHNSTON,T.P.: S-2-(3-aminoalkylamino)ethylidihydrogen phosphorothioates and related compounds as potential antiradiation agents. J. Med. Chem..1969.12:236-243.

9*

GLOVER,D.,FOX,K.R.,WEILER,C.,KLIGERMAN,M.M.,TURRISI,A.,GLICK,J.H.: Clinical trials of WR2721 prior to alkylating agent chemotherapy and radiotherapy. Pharmac. Ther.. Pergamon Press,Oxford.1988.39:3-7.

- 10*
 TRAVIS,E.L.: Radiobiología Médica. Ed. A.C., Madrid.1979.
 pp.92-147.
- 11*
 FLETCHER,G.H.: Teextbook of Radiotherapy. Lea and Fabiger
 (eds.), Philadelphia. 1980.
- 12*
 WALKER,R.I.: Requirements of radioprotectors for military and
 emergency needs. Pharmac. Ther.. Pergamon
 Press,Oxford.1988.39:13-20.
- 13*
 GIAMBARRESI,L.,JACOBS,A.J.: Radioprotectants. En.
 CONKLIN,J.J., WALKER,R.I. (eds.): Military Radiobiology.
 Academic Press, Orlando.1987.pp.265-301.
- 14*
 PARDO,J.,MARTIN,M.J.,FUENTES,M.,MORATINOS,P.,MENENDEZ,J.A.:
 Compuestos radioprotectores: estado actual del problema.
 Oncología.1990.13(8):376-384.
- 15*
 GYS,R.: Manuel de Radiobiologie et de Radioprotection. Maloine
 S.A.,Paris.1971.pp.61.
- 16*
 HALL,E.J.: Radiobiology for the Radiologist. J.B. Lippincott
 Company,Philadelphia.1988.pp.10-16.
- 17*
 TRAVIS,E.L.: Radiobiología Médica. Ed. AC,Madrid.1979.
 pp.25-51.
- 18*
 BACQ,Z.M.,ALEXANDER,P.: Fundamentos de Radiobiología. Ed.
 Acribia,Zaragoza.1964.pp.160.
- 19*
 SINGH,A.,SING,H.: Time-scale and nature of Radiation-Biological
 damage: Approaches to radiation protection and post-irradiation
 therapy. Prog. Biophys. Molec. Biol..1982.39:69-106.
- 20*
 PHILLIPS,T.L.: Radiosensibilizadores y protectores. En: DeVITA,
 V.T.,HELLMAN,S.,ROSEMBERG,S.A.. Cancer. Principios y práctica
 de Oncología. Ed. Salvat,Barcelona.1984.pp.1670-1684.

- 21*
 COLEMAN,C.N.: Chemical modification of Radiation and
 Chemotherapy. En: DeVITA,V.T.,HELLMAN,S.,ROSEMBERG,S.A..
 Cancer. Principles & Practice of Oncology. J.B. Lippincott
 Company,Philadelphia.1989.pp.2436-2449.
- 22*
 BACQ,Z.M.,ALEXANDER,P.: Fundamentos de radiobiología. Ed.
 Acribia,Zaragoza.1964.pp.XIX.
- 23*
 CASCIATO,D.A.,LOWITZB.B.: Manual of Besdide Oncology. Little,
 Brown & Company,Boston.1983.pp.9-10.
- 24*
 BACQ,Z.M.,ALEXANDER,P.: Fundamentos de radiobiología. Ed.
 Acribia,Zaragoza.1964.pp.311-325.
- 25*
 PETKAU,A.: Radiation Protection by superoxide dismutase.
 Photochem. Photobiol..1978.28:765-774.
- 26*
 GEE,C.A.,KITTRIDGE,K.J.,WILSON,R.L.: Peroxy free radicals,
 enzymes and radiation damage: Sensitization by oxygen and
 protection by superoxide dismutase and antioxidants. Br. J.
 Radiol..1985.58:251-256.
- 27*
 GREENSTOCK,C.L.: Radiation chemical considerations for the
 radioprotection of cellular targets. Pharmac. Ther..1988.
 39:139-145.
- 28*
 PHILLIPS,T.L.: Radiosensibilizadores y protectores. En: DeVITA,
 V.T.,HELLMAN,S.,ROSEMBERG,S.A.. Cancer. Principios y práctica
 de Oncología. Ed. Salvat,Barcelona.1984.pp.1671.
- 29*
 CHAPMAN,J.D.,REUVERS,A.P.,BORSA,J.,GREENSTOCK,C.L.: Chemical
 radioprotection and radiosensitization of mammalian cells
 growing in vitro. Radiat. Resc..1973.56:291-306.
- 30*
 HELD,K.D.,HARROP,H.A.,MICHAEL,B.D.: Effects of oxygen and
 sulphhydryl containing compounds on irradiated transforming DNA.
 II. Glutathione, cysteine and cysteamine. Int. J. Radiat.
 Biol.. 1984.45:615-626.

- 31*
 COLEMAN, C.N., BRUMP, E.A., KRAMER, R.A.: Chemical modifiers of cancer therapy. *J. Clin. Oncol.* 1988.6:709-733.
- 32*
 TRAVIS, E.L.: *Radiobiología Médica*. Edit. AC, Madrid. 1979. pp.122-123.
- 33*
 WALTER, J., MILLER, H., BOMFORD, C.K.: A short textbook of Radiotherapy. Churchill Livingstone, Edimburgh. 1979;p. 173-174.
- 34*
 BELLOCH, V., CABALLE, E., ZARAGOZA, R.: *Manual de Terapéutica Física*. Ed. Saber, Valencia. 1972; p.650.
- 35*
 CRONKITE, E.P., BOND, V.P.: Diagnosis of radiation injury and analysis of the human lethal dose of radiation. *U.S. Armed Forces M.J.* 1960.11:249-260.
- 36*
 BOND, V.P., et al: *Mammalian Radiation Lethality: A disturbance of cellular kinetics*. Academic Press. New York. 1965.
- 37*
 COMITE DE PUBLICACION HIROSHIMA-NAGASAKI:
 Hiroshima-Nagasaki. Tokio. 1979.
- 38*
 CONARD, R.A., HICKING, A.: Medical findings in Marshallese people exposed to fallout radiation: Results from a ten-year study. *Jama*. 1965;192:457.
- 39*
 JAMET y col.: Estudio de las curvas hematológicas procedentes del protocolo de las 6 personas irradiadas el 15-10-58 en Vinca (Yugoslavia) con neutrones y rayos gamma procedentes de una reacción nuclear. En: PEREZ, S., PLATA R.: Radiaciones ionizantes. Artes Gráficas Langa y Co., Madrid. 1965.p.395-396.
- 40*
 SUTOW, W.W., CONARD, R.A.: Effects of Fallout Radiation on Marshallese Children. Proceedings of the Ninth Hanford Biology Symposium. Atomic Energy Commission Symposium Series. 1969.19:661-674.
- 41*
 SMITH, J.S., FISHER, J.H.: Three Mile Island: The Sileny Disaster. *Jama*. 1981; April:1656-1569.

42*

MAXWELL,C.: Hospital Organizational Response to the Nuclear Accident at Three Mile Island: Implication for future-oriented disaster planning. Am. J. Pub. Healt.1982;March:275-278.

43*

YOUNG,R.W.: Chernobyl in Retrospect.En:WEISS,J.F.,SIMIC,H.G. Ed.: Perspectives in Radioprotection. Pergamon Press,Oxford.1988;p.27-32.

44*

MOLE,R.H.: Radiation effects in man:Current views and prospects.Healt.Phys..1971;20:485.

45*

VILLALONGA,L.M. :Efectos de las armas nucleares.Asistencia a bajas masivas nucleares.Ed. Romagraf S.A..Madrid.1986.

46*

HERNANDEZ,J.: Las dosis de tolerancia de la radiación nuclear. Ibérica.1980.Octubre:339-344.

47*

UNITED NATIONS: Ionizing Radiation:Levels and effects.New York.1972.

48*

HEALT POLICY COMMITTEE:AMERICAN COLLEGE OF PHYSICIANS:The medical consequences of radiation accidents and nuclear war. Ann.Inter.Med..1982.97:447-450.

49*

KURTISIN,I.T.: Effects of ionizin radiation on the digestive system. Elsevier Publishing Co..New York.1963.

50*

Mc.DONALD,R.E., JENSEN,R.E., URRY,H.C., BOLIN,V.S., PRICE,P.B.: A study of the radiation syndrome.I.Water,electrolite and nitrogen balances. Am.J.Roentgen.1955.74:701-710.

51*

Mc.DONALD,R.E., JENSEN,R.E., URRY,H.C., BOLIN,V.S., PRICE,P.B.: A study of the radiation syndrome.II.Tissue water and tissue electrolytes.Am.J.Roentgen.1955.74:889-897.

52*

GERACI,J.P.,JACKSON,K.L.,MARIANO,M.S.: Protection against the physiological derrangements associated with acute intestinal radiation injury. Pharmac. Ther.. Pergamon Press,Oxford. 1988.39:45-47.

53*

WALKER,R.I.: Acute radiation injuries. Pharmac. Ther..Pergamon Pres,Oxford.1988.39:9-12.

54*

DUBOIS,A.: Aspects of radiation-induced gastrointestinal injury and radioprotection. Pharmac. Ther..Pergamon Pres,Oxford. 1988.39:67-72.

55*

BACQ,Z.M.: Chemical Protection Against Ionizing Radiation. THOMAS,CH. C. (ed.), Springfield, Illinois. 1965.

56*

COPELAND,E.S.: Mechanisms of radioprotection - A review. Photochem. Photobiol.. 1978. 28:839-844.

57*

KLAYMAN,D.L.,COPELAND,E.S.: Radioprotective agents. En: Encyclopedia of Chemical Technology (3ª edición).GRAYSON,M. (ed.). John Wiley & Sons, New York. 1982. 19:801-832.

58*

KLAYMAN,D.L.,COPELAND,E.D.: The design of antiradiation agents. En: Drugs Design. ARIENS,E.Y. (ed.). Academic Press, New York. 1975.6:82:141.

59*

BIAGLOW,J.E., VARNES,M.E., ASTOR,M., MITCHELL,J., RUSSO,R.: Intracellular thiols: Involvement in drug metabolism and radiation response. En: Radioprotectors and Anticarcinogens. NYGAARD,O.F.,SIMIC,M.G. (eds.). Academic Press,New York. 1983. pp.203-236.

60*

MALAISE,E.P.: Reduced oxygen enhancement of radiosensitivity of glutathione-deficient fibroblasts. Radiat. Resc..1983. 95:486-494.

61*

REVESZ,L.: The role of endogenous thiols in intrinsic radioprotection. Int. J. Radiat. Biol..1985.47:361-368.

62*

CLARK,E.P.: Thiol-induced biochemical modification of chemo-and radioresponses. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1986. 12:1121-1126.

63*

GRIFFITH, O.W., MEISTER, A.: Potent and specific inhibition of glutathione syntesis by buthionine sulfoximine (S-n-butylhomocysteine sulfoximine). J. Biol. Chem..1979. 254:7558-7560.

64*

DENEKAMP, J., ROJAS, A., STEVENS, G.: Redox competition and radiosensitivity: Implications for testing radioprotective compounds. Pharmac. Ther.. Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:59-66.

65*

VOS, O., ROOS-VERHEY, W.S.D.: Endogenous versus exogenous thiols. Comunicación presentada en el Symposium Perspectives in Radioprotection. Bethesda, Maryland. 1.987.

66*

RILIS, E.: DNA repair as a probe of radiosensitivity and radioprotection. En: SIMIC, M.G., NYGAARD, O.F. (eds.). Radioprotectors and Anticarcinogens. Academic Press, New York. 1.983. pp.363-380

67*

DOHERTY, D.G., BURNETT, W.T., SHAPIRO, R.: Chemical protection against ionizing radiation. II. Mercaptoalkylamines and related compounds with protective activity. Radiat. Res. 1957. 7:13-21.

68*

HUTCHINSON, F.: Chemical changes induced in DNA by ionizing radiation. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.. 1985. 32:115-154.

69*

ALEXANDER, P., CHARLESBY, A.: Physico-chemical methods of protection against ionizing radiations. En: BACQ, Z.M., ALEXANDER, P. (eds.). Radiobiology Symposium 1954. Academic Press, New York. 1955.pp.49-59.

70*

ALPER, T., HOWARD-FLANDERS, P.: Role of oxygen in modifying the radiosensitivity of E. coli B. Nature. 1956. 178:978-979.

71*

WILSON, R.L.: Free radical repair mechanisms and the interactions of glutathione and vitamins C and E. En: SIMIC, M.G., NYGAARD, O.F. (eds.). Radioprotectors and Anticarcinogens. Academic Press, New York. 1983. pp.1-22.

72*

DURAND, R.E.: Radioprotection by WR-2721 in vitro at low oxygen tensions: Implications for its mechanisms of action. Br. J. Cancer. 1983. 47:387-392.

73*

PURDIE, J.W., INHABER, E.R., SCHNEIDER, H., LABELLE, J.L.: Interaction of cultured mammalian cells with WR-2721 and its thiol WR-1065: Implications for mechanisms of radioprotection. Int. J. Radiat. Biol.. 1983. 43:517-527.

74*

DENEKAMP, J., MICHAEL, B.D., ROJAS, A., STEWARD, F.A.: Thiol radioprotection in vivo: The critical role of tissue oxygen concentration. Br. J. Radiol.. 1981. 54:1112-1114.

75*

DEWEY, D.L.: The X-ray sensitivity of *Serratia marcescens*. Radiat. res.. 1963. 19:64-87.

76*

LUNEC, J., CULLEN, B.M., WALKER, H.C., HORNSEY, S.: A cautionary note on the use of thiol compounds to protect normal tissues in radiotherapy. Br. J. radiol.. 1981. 54:428-429.

77*

CULLEN, B.M., WALKER, H.C.: Variation of the radiobiological oxygen constant K, with the proliferative activity of the cells. Int. J. Radiat. Biol.. 1980. 38:513-524.

78*

CULLEN, B.M., MICHALOWSKI, A., WALKER, H.C., REVESEZ, L.: Correlation between the radiobiological oxygen constant K, and the non-protein sulphhydryl content of mammalian cells. Int. J. Radiat. Biol.. 1980. 38:525-535.

79*

DENEKAMP, J., MICHAEL, B.D., HARRIS, S.R.: Hypoxic cell radiosensitizers: Comparative tests of some electron affinic compounds using epidermal cell survival in vivo. Radiat. Res.. 1974. 60:119-132.

80*

PARKINS, C.S., FOWLER, J.F., DENEKAMP, J.: Low radioprotection by thiol in lung: The role of local tissue oxygenation. Eur. J. Cancer Clin. Oncol.. 1983. 19:1169-1172.

81*

BLOK, J., LUTHJENS, L.H., ROOS, A.L.M.: The radiosensitivity of bacteriophage DNA in aqueous solution. Radiat. Res.. 1967. 30:468-482.

82*

ACHEY, P., DURYEA, H.: Production of DNA strand breaks by the hydroxyl radical. *Int. J. Radiat. Biol.* 1974. 25:595-601.

83*

HELD, K.D., SYNEK, R.W., POWERS, E.L.: Radiation sensitivity of transforming DNA. *Int. J. Radiat. Biol.* 1978. 33:317-324.

84*

SPINKS, J.W.T., WOODS, R.J.: An Introduction to Radiation Chemistry. WILEY, J. (ed.). New York. 2nd ed.. 1976.

85*

DEJONG, J., LOMAN, H., BLOK, J.: Inactivation of biologically active DNA by radiation-induced phenylalanine radicals. *Int. J. Radiat. Biol.* 1972. 22:11-21.

86*

HELD, K.D., HARROP, H.A., MICHAEL, B.D.: Effects of oxygen and sulphhydryl-containing compounds on irradiated transforming DNA. I. Actions of dithiothreitol. *Int. J. Radiat. Biol.* 1981. 40:613-622.

87*

HELD, K.D.: Models for thiol protection of DNA in cells. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:123-131.

88*

VAN HEMMEN, J.J., MEULING, W.J.A., DEJONG, J., LUTHEJENS, L.H.: Radioprotection of biologically-active DNA by cysteamine: A rapid mix study. *Int. J. Radiat. Biol.* 1974. 25:455-464.

89*

LAFLEUR, M.V.M., WOLDHUIS, J., LOMAN, H.: Effects of sulphhydryl compounds on the radiation damage in biologically active DNA. *Int. J. Radiat. Biol.* 1980. 27:493-498.

90*

ROOTS, R., OKADA, S.: Protection of DNA molecules of cultured mammalian cells from radiation-induced single strand scissions by various alcohols and SH compounds. *Int. J. Radiat. Biol.* 1972. 21:329-342.

91*

SASAKI, M.S., MATSUBARA, S.: Free radical scavenging in protection of human lymphocytes against chromosome aberration formation by gamma-ray irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 1977. 39:439-445.

- 92*
 ROTI, J.L., CERUTTI, P.: Gamma ray-induced thymine damage in mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 1974. 25:413-417.
- 93*
 REMSON, J.F., ROTI, J.L.: Formation of 5,6-dihydroxydihydrothymine-type products in DNA by hydroxyl radicals. *Int. J. Radiat. Biol.* 1977. 32:191-194.
- 94*
 HELD, K.D.: Role of free radical scavengers in radiation protection of DNA. En: *Free Radicals. Aging and Degenerative Diseases.* JOHNSON, J.E., WALFORD, R., HARMAN, D., MIQUEL, J. (eds.). Alan R. Liss, New York. pp.527-568.
- 95*
 OKADA, S., NAKAMURA, N., SAKAI, K.: Radioprotection of intracellular genetic material. En: *Radioprotectors and Anticarcinogens.* SIMIC, M.G., NYGAARD, O.F. (eds.). Academic Press, New York. 1983. pp.339-356.
- 96*
 SKOV, K.A.: The contribution of hydroxyl radical to radiosensitization: A study of DNA damage. *Radiat. Res.* 1984. 99:502-510.
- 97*
 FAHEY, R.C.: Protection of DNA by thiols. Comunicación presentada en el Symposium Perspectives in Radioprotection, Bethesda, Maryland. 1.987.
- 98*
 LANDAUER, M.R., DAVIS, H.D., DOMINITZ, J.A., WEISS, J.: Comparison of the behavioral effects of several sulfhydryl radioprotectors in mice. En: Weiss, J.F., Simic, M.G. ed. *Pharmacology and Therapeutics.* Pergamon Press, Oxford. 1.988. 39:97-100.
- 99*
 VOS, O., BUDKE, L., VERGROESEN, A.J.: Protection of tissue culture cells against ionizing radiation. I. The effect of biological amines, disulphide compounds and thiols. *Int. J. Radiat. Biol.* 1962. 50:155-165.
- 100*
 EIDUS, L.K., KORISTOV, Y.N., KUBLIK, L.N., VEXLER, A.M.: Dependence of radioprotective effect of chemical modifying agents on their intracellular concentrations. *Int. J. Radiat. Biol.* 1982. 41:625-632.

101*

ZWENK, H., VERGROESEN, A. J., VOS, O.: Protection against X-irradiation by sulphhydryl compounds. I. Studies on the cellular uptake under various conditions of incubation. *Int. J. Radiat. Biol.* 1967. 13:69-76.

102*

KOC, C. J., STORBE, C. C., BAER, K. A.: Combined radiation-protective and radiation-sensitizing agents. III. Radiosensitization by misonidazole as a function of concentration of endogenous glutathione or exogenous thiols. *Int. J. Radiat. Biol. Phys.* 1986. 12:1151-1155.

103*

DESCHAVANNE, P. J., MIDANDER, H., DEBIEU, D., MALAISE, E. P., REVESZ, L.: Radioprotective effect of cysteamine in glutathione synthetase-deficient cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 1986. 49:85-101.

104*

ALPER, T.: *Cellular Radiobiology*. Cambridge University Press, Cambridge. 1979.

105*

MEISTER, A., ANDERSON, M. E.: Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* 1983. 52:711-760.

106*

BIAGLOW, J. E., VARNES, M. E., EPP, E. R., CLARK, E. P., ASTOR, M. B.: Redox enzymes and thiol radicals. In: *Oxygen and Sulfur Radicals in Chemistry and Medicine*. ROGERS, M., BRECCIA, A. (eds.). Academic Press, New York. 1986. pp.1321-1356.

107*

BIAGLOW, J. E., VARNES, M. E., ROIZEN-TOWLE, L., CLARK, E. P., EPP, E. R., ASTOR, M. B., HALL, E. J.: Biochemistry of reduction of nitroheterocycles. *Biochem. Pharm.* 1986. 35:77-90.

108*

MITCHELL, J. B., PHILLIPS, T. L., DEGRAFF, W., CARMICHAEL, J., RAJPAL, R. K., RUSO, A.: The relationship of SR-2508 sensitizer enhancement ratio to cellular glutathione levels in human tumor cell lines. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1986. 12:1143-1146.

109*

PHILLIPS, T. L., MITCHELL, J. B., DEGRAFF, W., RUSSO, A., GLATSTEIN, E.: Variation in sensitizing efficiency for SR-2508 in human cells dependent on glutathione content. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1986. 12:1627-1635.

110*
POST,G.B.,KELLER,D.A.,CONNER,K.A.,MENZEL,D.B.: Effects of culture conditions on glutathione content in A549 cells. Biochem. Biophys. Res. Commun..1983.114:737-742.

111*
MITCHELL,J.B.,RUSSO,A.: Thiols, thiol depletion and thermosensitivity. Radiat. Res..1983.95:471-485.

112*
OHARA,H.,TERASIMA,T.: Variations of cellular sulfhydryl content during cell cycle of HeLa cells and its correlation to cycle change of X-ray sensitivity. Exp. Cell. Res..1969.58:182-185.

113*
SINCLAIR,W.K.: Protection by cysteamine against lethal X-ray damage during the cell cycle of Chinese hamster cells. Radiat. Res..1969.39:135-154.

114*
YOUNES,H.,SEIGERS,C.P.: Mechanistic aspects of enhanced lipid peroxidation following glutathione depletion in vivo. Chem. Biol. Interact.. 1981.34:257-266.

115*
BIAGLOW,J.E.: Cellular electron transfer and radical mechanisms for drug metabolism. Radiat. Res..1981.86:212-242.

116*
MITCHELL,J.B.,RUSSO,A.,BIAGLOW,J.E.: Cellular glutathione depletion by diethylmaleate or buthionine sulfomixine and its effects on the oxygen enhancement ratio. Radiat. Resc..1983.94:612-620.

117*
JAKOBY,W.B.,HABIG,W.H.: Glutathione transferases. En: Enzymatic Bases of Detoxification. JACOBY,W.B.(ed.). Academic Press,New York. 1980.II:63-94.

118*
JENSEN,G.L.,MEISTER,A.: Radioprotection of human lymphoid cells by exogenously supplied glutathione is mediated by gammaglutamyl transpeptidase. Proc. Natn. Acad, Sci. U.S.A..1983.80:4714-4717.

119*
PURI,R.N.,MEISTER,A.: Transport of glutathione, as gammaglutamylcysteinylglycyl ester, into liver and kidney. Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A..1983.80:5258-5260.

120*

WELLNER,V.P., ANDERSON,M.E., PURI,R.N., JENSEN,G.L., MEISTER,A.: Radioprotection by glutathione ester:Transport of glutathione ester into human lymphoid cells and fibroblasts. Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.. 1984.81:4732-4735.

121*

MEISTER,A.: Current status of the glutamyl cycle. En: Functions of Glutathione in Liver and Kidney. SIE,H.,WENDEL,A (eds.). Springer,New York. 1978. pp.43-59.

122*

MORSE,M.L.,DAHL,R.H.: Cellular glutathione is a key to the oxygen effect in radiation damage. Nature. 1978. 271:660-662.

123*

EDGREN,M.,LARSON,A.,NILSSON,K.,REVESZ,L.,SCOTT,O.C.A.: Lack of oxygen effect in a glutathione-defficient human cells in culture. Int. J. Radiat. Biol..1980.37:299-306.

124*

CLARK,E.P., EPP,E.R., BIAGLOW,J.E., MORSE-GAUDIO,M., ZACHGO,E.: Glutathione depletion radiosensitization and misonidazole potentiation in hypoxyc Chinese hamster ovary cells by buthionine sulfoximine. Radiat. Res..1984.98:370-380.

125*

VOS,O.,VAN DER SHANS,G.P.,ROOS-VERHEY,W.S.D.: Reduction of intracellular glutathione content and radiosensitivity. Int. J. Radiat. Biol..1986.50:155-165.

126*

DETHMERS,J.K.,MEISTER,A.: Glutathione export by human lymphoid cells: Depletion of glutathione by inhibition of its synthesis decreases export and increases sensitivity to irradiation. Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A..1981.78:7492-7496.

127*

BIAGLOW,J.E.,VARNES,M.E.,EPP,E.R.,CLARKS,E.P.: Antioxidant and Redox enzymes in radioprotection. Pharmac. Ther.. Pergamon Press,Oxford. 1988. 39:275-286.

128*

BIAGLOW,J.E., CLARK,E.P., EPP,E.R., MORSE-GAUDIO,M.,VARNES,M.E., MITCHELL,J.B.: Nonprotein thiols and the radiation response of A549 human lung carcinoma cells. Int. J. Radiat. Biol.. 1983. 44:489-495.

129*

BIAGLOW,J.E.,VARNES,M.E.,CLARK,E.P.,EPP,E.R.: The role of thiols in cellular response to radiation and drugs. Radiat. Res.. 1983. 95:437-445.

130*

JACOBY, W.B. (ed.): Enzymatic Basis of Detoxification. Academic Pres, New York. 1980.

131*

BOREK, C., ONG, A., MASON, H., DONAHUE, L., BIAGLOW, J.E.: Selenium and vitamin E inhibit radiation and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1986.83:1490-1494.

132*

MEYERS, C.E., KATKI, A., TRAVIS, E.: Effect of tocopherol and selenium on defenses against reactive oxygen species and their effect on radiation sensitivity. N.Y. Acad. Sci. 1982. 393:419-426.

133*

VAN DER SCHANS, G.P., VOS, O., ROOS-VERHEI, W.S.D., LOHMAN, P.H.M.: The influence of oxygen on the induction of radiation damage in DNA in mammalian cells after sensitization by intracellular glutathion depletion. Int. J. Radiat. Biol. 1986. 50:453-465.

134*

VAN DER SCHANS, G.P., GROENENDIJK, R.H., LOHMAN, P.H.M.: Sensitive detection of single-strand breaks in DNA after in vivo exposure to ionizing radiation to evaluate the effects of protecting agents. Comunicación presentada en el Symposium Perspectives in Radioprotection. Bethesda, Maryland. 1987.

135*

REVESZ, L., MODIG, H.: Cysteamine-induced increase of cellular glutathione level: A new hypothesis of the radioprotective mechanism. Nature. 1965.207:430-431.

136*

MODIG, H.: Cellular mixed disulphides between thiols, their possible implication for radiation protection. Biochem. Pharmac. 1968.17:177-186.

137*

MODIG, H., EDGREN, M., REVESZ, L.: Release of thiols from cellular mixed disulphides and its possible role in radiation protection. Int. J. Radiat. Biol. 1972.22:257-268.

138*

ANDERSON, M.E., POWRIE, F., PURI, R.N., MEISTER, A.: Glutathione monoethyl ester: Preparation, uptake by tissues and conversion to glutathione. Arch. Biochem. Biophys. 1985.239:538-548.

139*

WILLIAMSON, J.M., BOTTCHEER, B., MEISTER, A.: Intracellular delivery system that protects against toxicity by promoting glutathione synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A..1982.79:6246-6249.

140*

RUSSO, A., MITCHELL, J.B.: Radiation response of Chinese hamster cells after elevation of intracellular glutathione levels. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1984.10:1243-1247.

141*

RUSSO, A., MITCHELL, J.B., FINKLESTEIN, E., DEGRAFF, W.G., SPIRO, I.J., GAMSON, J.: The effects of cellular glutathione elevation on the oxygen enhancement ratio. Radiat. Res..1985.103:232-239.

142*

ASTOR, M.B., MEISTER, A., ANDERSON, M.E.: Intracellular thiol levels and radioresistance: Studies with glutathione and glutathione mono ethyl ester. Comunicación presentada en el 35 Congreso Anual de la Radiation Research Society. Bethesda, Maryland.. 1987.

143*

SJÖBERG, L., ERIKSEN, T.E., REVESZ, L.: The reaction of the hydroxyl radical with glutathione in neutral and alkaline aqueous solution. Radiat. Res. 1982.89:255-263.

144*

MITCHELL, J.B., RUSSO, A.: The role of glutathione in irradiation and drug induced cytotoxicity. Br. J. Cancer. 1987.55:96-104.

145*

MOSS, W.T., COX, J.D.: Radiation Oncology. The C.V. Mosby Company. St. Louis, Missouri. 1989. pp.35-37.

146*

LOHMAN, P.H.M., VOS, O., VAN SLUIS, C.A., COHEN, J.A.: Chemical protection against breaks induced in DNA of human and bacterial cells by X-irradiation. Biochim. Biophys. Acta. 1970. 224:339-352.

147*

SAWADA, S., OKADA, S.: Cysteamine, cystamine and single-strand breaks of DNA in cultured mammalian cells. Radiat. Res.. 1970.44:116-132.

148*

MURRAY, D., VAN ANKEREN, S.C., MILAS, L., MEYN, R.E.: Radioprotective action of aminothiols in vitro and in vivo: Comparison between effects on DNA damage and cell survival. Pharmac. Ther.. Pergamon Press, Oxford. 1988.39:151-153.

149*

RADFORD, I.R.: Effect of radiomodifying agents on the ratio of X-ray-induced lesions in cellular DNA: use in lethal lesion determination. *Int. J. Radiat. Biol.* 1986;49:621-637.

150*

GREEN, M., PRAGER, A., RIKLIS, E.: Radioprotection of DNA: II. Effects of WR-2721 and cysteamine on formation and repair of DNA strand breaks. *Radiat. Resc.* 1988.96:326-335.

151*

UMA DEVI, P., THOMAS, B.: Bone marrow cell protection and modification of drug toxicity by combination of protectors. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988.39:213-214.

152*

FAHEY, R.C., NEWTON, G.L.: The measurement of WR 2721, WR 1065 and WR 33278 in plasma. *Int. J. Oncol. Biol. Phys.* 1985. 11:1193.

153*

McGOVERN, E.P., SWYNNERTON, N.F., STEELE, P.D.: HPLC assay for WR 2721 in plasma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1984. 10:1517.

154*

SHAW, L.M., BONNER, H., TURRISI, A.: A liquid chromatographic electrochemical assay for WR 2721 in human plasma. *J. Chromat.* 1984. 7:2447.

155*

SWYNNERTON, N.F., McGOVERN, E.P., MANGOLD, D.J.: HPLC assay for WR2721 in plasma. *J. Liq. Chromat.* 1983.6:1523.

156*

SWYNNERTON, N.F., McGOVERN, E.P., NINO, J.A.: An improved HPLC assay for wr 2721 in plasma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1984.10:1521.

157*

SHAW, L.M., TURRISI, A., GLOVER, D.: Human pharmacokinetics of WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1986.12:1501.

158*

UTLEY, J.F., MARLOWE, C., WADDELL, W.J.: Distribution of ³⁵S-labeled WR 2721 in normal and malignant tissues of the mouse. *Radiat. Res.* 1976.68:284.

159*

YUHAS, J.M.: Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by WR 2721. *Cancer Res.* 1980.40:1519-1524.

160*

AFZAL, V., AFZAL, S.M.J., PARDINI, C., YUHAS, J.M.: The feasibility of developing central nervous system radioprotectors for use in radiotherapy. *Radiat. Res.* 1982.59:475-483.

161*

YUHAS, J.M., PARDINI, M.C.: Chemical inhibition of host toxicity as a means of overcoming tumor radioresistance. En: *Biological Bases and Clinical Implications of Tumor Radioresistance*. FLETCHER, G.H., NERVI, C., WITHERS, H.R. (eds.). Masson, New York. 1983. pp.317-329.

162*

AKERFELDT, S.: Enzymic hydrolysis of cysteamine S-phosphate by human erythrocytes. *Acta Chem. Scand.* 1960.14:1019-1024.

163*

HARRIS, J.W., PHILLIPS, T.L.: Radiobiological and biochemical studies of thiophosphate radioprotective compounds related to cysteamine. *Radiat. Res.* 1971.46:362-379.

164*

HERRINGTON, K.A., SMALL, C.J., MEISTER, A., FRIEDMAN, O.M.: Studies on latent derivatives of aminoethanethiols as potentially selective cytoprotectants. IV. Enzymatic hydrolysis of cysteamine-S-phosphatase. *Cancer Res.* 1967.27:148-151.

165*

NEUMANN, H.: Substrate selectivity in the action of alkaline and acid phosphatases. *J. Biol. Chem.* 1967.243:4671-4676.

166*

NEUMANN, H., BOROSS, L., KATCHALSKI, E.: Hydrolysis of S-substituted monoesters of phosphorothioic acid by alkaline phosphatase from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 1967.242:3142-3147.

167*

MCCOMB, R.B., BOWERS, G.N., POSEN, S.: *Alkaline Phosphatase*. Plenum Press, New York. 1979.

168*

CALABRO-JONES, P.M., FAHEY, R.C., SMOLUK, G.D., WARD, J.F.: Alkaline phosphatase promotes radioprotection and accumulation of WR 2721 in V79.171 cells incubated in medium containing WR 2721. *Int. J. Radiat. Biol.* 1985.47:23-27.

169*

SMOLUK, G.D., FAHEY, R.C., WARD, J.F.: Equilibrium dialysis studies of the binding of radioprotector compounds to DNA. *Radiat. Res.* 1986.107:194-2024.

170*

PHIL,A.,ELDJARN,L.: Pharmacological aspects of ionizing radiation and of chemical protection in mammals. *Pharmac. Rev.* 1958.10:437-474.

171*

LIVESEY,J.C.,REED,D.J.: Chemical protection against ionizing radiation. *Adv. Radiat. Biol.*1987.13:285-353.

172*

KOCH,C.J.,STOBBE,C.C.,BUMP,E.A.: The effect on the Km for radiosensitization at 0°C of thiol depletion by diethylmaleate pretreatment:Quantitative differences found using the radiation sensitizing agent misonidazole or oxygen. *Radiat. Resc.*1984. 98:141-153.

173*

MILAS,L.,HUNTER,N.,REID,B.O.,THAMES,H.D.: Protective effects of WR 2721 against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in mice. *Cancer Res.*1982.42:1888-1897.

174*

STEWART,F.A.,ROJAS,A.,DENEKAMP,J.: Radioprotection of two mouse tumors by WR 2721 in single and fractionated treatments. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*1983.9:507-513.

175*

YUHAS,J.M.,STORER,J.B.: Chemoprotection against three modes of radiation death in the mouse. *Int. J. Radiat. Biol.*1969. 15:233-237.

176*

YUHAS,J.M.,STORER,J.B.: Differential chemoprotection of normal and malignant tissues. *J. Natl. Canc. Inst.*1969.42:331-335.

177*

PHILLIPS,T.L.,KANE,L.,UTLEY,J.F.: Radioprotection of tumor and normal tissues by thiophosphate compounds. *Cancer.* 1973. 32:528-535.

178*

MILAS,L.,HUNTER,N.,REID,B.: Protective effects of WR2721 against radiation-induced injury of murine gut, testis, lung and lung tumor nodules. *Int. J. Radiat. Oncol. Phys.*1982.8:535-538.

179*

UTLEY,J.F.,PHILLIPS,T.L.,KANE,L.J.: Protection of normal tissues by WR2721 during fractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Phys.*1976.1:699-703.

180*

STEWART,F.A.,ROJAS,A.: Radioprotection of mouse skin by WR2721 in single and fractionated treatments. Br. J. Radiol..1982. 55:42-47.

181*

TRAVIS,E.L.,DE LUCA,A.M.,FOWLER,J.F.,PADIKAL,T.N.: The time course of radioprotection by WR2721 in mouse skin. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1982.8:843-850.

182*

MEISTRICH,M.L.,FINCH,M.V.,HUNTER,N.,MILAS,L.: Protection of spermatogonial survival and testicular function by WR2721 against high and low doses of radiation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1984.10:2099-2107.

183*

UTLEY,J.F.: Radioprotection of oral cavity structures by WR2721. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1978.4:643-647.

184*

SODICOF,M.,CONGER,A.D.,PRATT,N.E.,TREPPER,P.: Radioprotection by WR2721 against long-term chronic damage to the rat parotid gland. Radiat. Res..1978.76:172-179.

185*

SODICOF,M.,CONGER,A.D.,TREPPER,P.,PRATT,N.E.: Short-term radioprotective effects of WR2721 on the rat parotid glands. Radiat. Res..1978.75:317-326.

186*

TRAVIS,E.L.: The oxygen dependence of protection by aminothiols: Implications for normal tissues and solid tumors. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1984.10:1495-1501.

187*

WILLIAMS,M.V.,DENEKAMP,J.: Modification of the radiation response of the mouse kidney by misonidazole and WR2721. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys..1983.9:1731-1736.

188*

DENEKAMP,J.,ROJAS,A.,STEWART,F.A.: Is radioprotection by WR2721 restricted to normal tissues?. En:Radioprotectors and Anticarcinogens. NYGAARD,O.F.,SIMIC,M.G. (eds.). Academic Press,New York.1983.pp.655-679.

189*

JIRTLE,R.L.,PIERCE,L.J.,CROCKER,I.R.,STROM,S.C.: Radiation protection of rat parenchymal hepatocytes with WR2721. Radiother. Oncol..1985.4:231-237.

190*

UTLEY, J.F., QUINN, C.A., WHITE, F.C., SEAVER, N.A., BLOOR, C.M.: Protection of normal tissue against late radiation injury by WR2721. *Radiat. Res.* 1981.85:408-415.

191*

YUHAS, J.M.: Efficacy testing of WR2721 in Great Britain or everithing is black and withe at the Gray Lab.. *Int. J. Radiat. Biol. Oncol. Phys.* 1983.9:595-598.

192*

WASHBURN, L.C., RAFTER, J.J., HAYES, R.L.: Radiation of the effective radioprotective dose of WR2721 in humans through interspecies tissue distribution study. *Radiat. Resc.* 1976.66:100-105.

193*

YUHAS, J.M., CULO, F.: Selective inhibition of the nephrotoxicity of cis-platinum without altering its antitumor effectiveness. *Cancer Treat. Rep.* 1980.64:57-64.

194*

YUHAS, J.M., SPELLMAN, J.M., CULO, F.: The role of WR2721 in radiotherapy and/or chemotherapy. *En: Radiation Sensitizers*. BRADI, L. (ed.). Masson Press, New York. 1980. pp.303-308.

195*

WASSERMAN, T.H., PHILLIPS, T.L., ROSS, G. KANE, L.J.: Protection against cytotoxic chemotherapeutic effects on bone marrow colony-forming units by the radioprotector WR2721. *Cancer Clin. Trials* 1982.4:3-6-.

196*

YUHAS, J.M., DAVIS, M.E., GLOVER, D., BROWN, D., RITTER, M.: Circunvention of the tumor membrane barrier to WR2721 absorption by reduction of drug hydrophilicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1982.8:519-522.

197*

RASEY, J.S., NELSON, N.J., MAHLER, P., ANDERSON, K., KROHN, K.A., MENARD, T.: Radioprotection of normal tissues against gamma rays and cyclotron neutrons with WR2721: LD50 studies and 35-S-WR2721 biodistribution. *Radiat. Resc.* 1984.97:598-607.

198*

WASHBURN, L.C., CARLTON, J.E., HAYES, R.L., YUHAS, J.M.: Distribution of Wr2721 in normal and malignant tissues of mice and rats: Dependence on tumor type, drug dose and species. *Radiat. Res.* 1974.59:475-483.

199*

UTLEY, J.F., KANE, L.J.: Differential absorption of 35-S-WR2721 in normal and malignant tissues of animals. En: Radiation Sensitizers. BRADY, L.W. (ed.). Masson, New York. 1980. pp. 516-518.

200*

RASEY, J.S., KROHN, K.A., MENARD, T.W., SPENCE, A.M.: Comparative biodistribution and radioprotection studies with three radioprotective drugs in mouse tumors. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1986. 12:1487-1490.

201*

TRAVIS, E.L., PARKINS, C.S., HOLMES, S.J., DOWN, J.D., FOWLER, J.F.: WR2721 protection of pneumonitis and fibrosis in mouse lung after single doses of X-rays. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1984. 10:243-251.

202*

BOURNE, G.: The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. Q. J. Exp. Physiol.. 1943. 32:1-19.

203*

NAKAMURA, J., SHAW, L.M., BROWN, D.Q.: Hydrolysis of WR2721 by mouse liver cell fractions. Radiat. Res.. 1987. 109:143-152.

204*

RITER, M.A., BROWN, D.Q., GLOVER, D.J., YUHAS, J.M.: In vitro studies on the absorption of WR2721 by tumors and normal tissue. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1982. 8:523-526.

205*

PURDIE, J.W.: A comparative study of the radioprotective effects of cysteamine, WR2721 and WR1065 in cultured human cells. 1979. 77:303-331.

206*

PHILLIPS, T.L.: Rationale for initial clinical trials and future development of radioprotectors. Cancer Clin Trials. 1980. 3:165-173.

207*

MILAS, L., HUNTER, N., ITO, H., PETERS, L.J.: Effect of tumor type, size and endpoint on tumor radioprotection by WR2721. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1984. 10:41-48.

208*

DORR, F.A., COLTMAN, C.A.: Second cancers following antineoplasia therapy. Curr. Probl. Cancer. 1985. 9:1-43.

- 209*
BARTOLUCCI, A.A., LIU, C., DURANT, J.R., GAMS, R.A.: Acute myelogenous leukemia as a second malignant neoplasm following the successful treatment of advanced Hodgkin's disease. *Cancer*. 1983. 52:2209-2213.
- 210*
JACQUILLAT, C., KHAYAT, D., DESPREZ-CURELY, J.P., WEIL, M., BROCHERIOU, C., AUCLERC, G., CHAMSEDDINE, N., BERNARD, J.: Non-Hodgkin's lymphoma occurring after Hodgkin's disease. *Cancer*. 1984. 53:459-462.
- 211*
ROWLEY, J.D., GOLOMB, H.M., VARDIMAN, J.W.: Nonrandom chromosomal abnormalities in acute leukemia and dysmyelopoietic syndromes in patients with previously treated malignant disease. *Blood*. 1981. 58:759-767.
- 212*
PENN, I.: Second neoplasms following radiotherapy or chemotherapy for cancer. *Am. J. Clin. Oncol.* 1982. 5:83-96.
- 213*
CHAK, L.Y., SIKIC, B.I., TUCKER, H.M., HORNS, R.C., COX, R.S.: Increased incidence of acute nonlymphocytic leukemia following therapy in patients with small cell carcinoma of the lung. *J. Clin. Oncol.* 1984. 2:385-390.
- 214*
JACOBS, A.D., GALE, R.P.: Acute myelogenous leukemia following radiation and chemotherapy for osteosarcoma. *Cancer Treatment Rep.* 1984, 68:901-911.
- 215*
MILAS, L., HUNTER, N., STEPHENS, C.L., PETERS, L.J.: Inhibition of radiation carcinogenesis by WR2721. *Cancer Res.* 1984. 44:5567-5569.
- 216*
GRDINA, D.J., NAGY, B., HILL, C.K., WELLS, R.L., PERAINO, C.: The radioprotector WR1065 reduces radiation-induced mutations at the hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase locus in V79 cells. *Carcinogenesis*. 1985. 6:929-931.
- 217*
GRDINA, D.J., PERAINO, C., CARNES, B.A., HILL, C.K.: Protective effect of WR2721 against induction of altered hepatocyte foci in rats treated once with gamma-radiation within one day after birth. *Cancer Res.* 1985. 45:5379-5381.

218*

NAGY, B., DALE, P. J., GRDINA, D. J.: Protection against cis-dimethyldichloroplatinum cytotoxicity and mutagenicity in V79 cells by 2-aminopropylaminoethanethiol. 1986. Cancer Res.. 1986. 46:1132-1135.

219*

NAGY, B., GRDINA, D. J.: Protective effects of 2-aminopropylaminoethanethiol against bleomycin and nitrogen mustard-induced mutagenicity in V79 cells. Int. J. radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1986. 12:1475-1478.

220*

HILL, C. K., NAGY, B., PERAINO, C., GRDINA, D. J.: WR1065 is antineoplastic and anti-mutagenic when given during ⁶⁰Co gamma-ray irradiation. Carcinogenesis. 1986. 7:665-668.

221*

TRAVIS, E. L., MEISTRICH, M. L., FINCH-NEIMEYER, M. V., WATKINS, T. L., KISS, I.: Late functional and biochemical changes in mouse lung after radiation: Differential effects of WR2721. Radiat. Res.. 1985. 103:219-231.

222*

TRAVIS, E. L., THAMES, H. D., TUCKER, S. L., WATKINS, T. L., KISS, I.: Protection of mouse jejunal crypt cells by WR2721 after small doses of radiation. Int. J. radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1986. 12:807-814.

223*

WEISMAN, R. A., GLOVER, D., SCHWARTZ, D. M., WEILER, C.: Limitation of cis-platinum ototoxicity by a protector agent WR 2721. Abstr. Am. Acad. Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 1985.

224*

MOLLMAN, J. E., GLOVER, D. J., HOGAN, W. M., FURMAN, R. E.: Cis-platinum neuropathy: Risk factors and a possible protective agent. Neurology. 1985. 35:80.

225*

GLICK, J., GLOVER, D., WEILER, C., NORFLEET, L., YUHAS, J., KLIGERMAN, M. M.: Phase I controlled trials of WR2721 and cyclophosphamide. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1984. 10:1777-1780.

226*

GLOVER, D., RILEY, L. J., CARMICHAEL, K., SPAR, B., GLICK, J. H., SLATOPOLSKY, E., ATTIE, M., GOLDFARB, S.: Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion following administration of WR2721: A radio and chemoprotective agent. New Engl. J. Med.. 1983. 309:1137-1141.

227*

MAISIN, J.R., BACQ, Z.M.: Toxicity. En: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics: Sulfur-containing Radioprotective Agents. BACQ, Z.M. (ed.). Pergamon Press, New York. pp.15-39.

228*

CAIRNIE, A.B.: Adverse effects of the radioprotector WR2721. Radiat. Res.. 1983. 94:221-226.

229*

BACQ, Z.M.: Importance of pharmacological effects for radioprotective action. En: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics: Sulfur-containing Radioprotective Agents. Pergamon Press, New York. 1975. pp.319-323.

230*

HUGON, J.S.: Cellular effects as seen with the electron microscope. En: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics: Sulfur-containing Radioprotective Agents. BACQ, Z.M. (ed.). Pergamon Press, New York. 1975.

231*

MAISIN, J.R., LAMBIET-COLLIER, M.: Influence of a mixture of chemical radioprotectors on the cellular renewal in the duodenum of mice. Nature. 1967. 214:412-413.

232*

WANG, R.I.H., KEREIAKES, J.: Increased radioprotection by combinations of radioprotective compounds. Radiation Research. 1959; 11:476.

233*

BROWN, D.Q., SHAW, L.M., HARDIMAN, J., PITTOCK, J.W.: Can WR-2721 be improved upon?. En: Weiss, J.F., Simic, M.G., eds. Pharmacology and Therapeutics. Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:157-168.

234*

UTLEY, J.F., SEAVER, N., NEWTON, G.L., FAHEY, R.C.: Pharmacokinetics of WR-1065 in mouse tissue following treatment with WR-2721. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1984. 10:1525-1528.

235*

BOGO, V., JACOBS, A.J., WEISS, J.F.: Behavioral toxicity and efficacy of WR-2721 as a radioprotectant. Radiation Research. 1985. 104:182-190.

236*

CAIRNIE, A.B.: Adverse effects of the radioprotector WR-2721. Radiation Research. 1983. 94:221-226.

237*

TURRISI, A.T., GLOVER, D.J., HURWITZ, S., GLICK, J. NORFLEET, A.L., WEILER, C., YUHAS, J.M., KLIGERMAN, M.M.: The final report of the Phase I trial of single dose WR2721, intravenous infusion. Cancer Treat. Rep..1986.70:1389-1393.

238*

GRDINA, D.J., GUILFORD, W.H., SIGESTAD, C.P., GIOMETTI, C.S.: Effects of radioprotectors on DNA damage and repair proteins, and cell-cycle progression. Pharmac Ther..Pergamon Press, Oxford. 1988.39:133-137.

239*

VOS, O., BUDKE, L., GRANT, G.A.: Modification of the radiation response of the mouse kidney by misonidazole and WR2721. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Pys..1976.9:1731-1736.

240*

MORI, T., NIKADIO, O., SUGHARA, T.: Dephosphorylation of WR2721 with mouth tissue homogenates. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.. 1984.10:1529-1531.

241*

GRDINA, D.J., NAGY, B., SIGDESTAD, C.P.: Radioprotectors in treatment therapy to reduce risk in secondary tumor induction. En: Weiss, J.F., Simic, M.G. ed. Pharmacology and Therapeutics. Oxford: Pergamon Press, 1.988.vol. 39:21-25.

242*

GRDINA, D.J., NAGY, B.: The effect of WR1065 on radiation-induced DNA damage and repair and cell progression in V79 cells. Br. J. Cancer.1986.54:933-941.

243*

SIGESTAD, C.P., TREACY, S.H., HNAPP, L.A., GRDINA, D.J.: The effects of WR1065 on radiation-induced DNA double strand damage and repair in V79 cells. Br. J. Cancer.1987.55:477-482.

244*

TAMBA, M., SIMONE, G., QUINTILIANI, M., DEL SOLDATO, P.: Model experiments to evaluate the protective role of thiols and other reductants against oxidative damage. Comunicación presentada en el Symposium Perspectives in Radioprotection. Bethesda, Maryland, 1.987.

245*

PETKAU, A., CHUAQUI, C.A.: Superoxide dismutase as a radioprotector. Radiat. Phys. Chem.. 1984. 24: 307-319.

- 246*
KUMAR, K.S., VAISHNAV, Y.N., WEISS, J.F.: Radioprotection by antioxidant enzymes and enzyme mimetics. *Pharmac. Ther.*. Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:301-309.
- 247*
WEISS, J.F., KUMAR, K.S.: Antioxidant mechanisms in radiation injury and radioprotection. En: *Cellular Antioxidant Defense Mechanisms*, Vol. II. CHOW, C.K. (ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida. 1988.
- 248*
GREENSTOCK, C.L.: Oxygen radicals and ions and their control in biology. En: *Advances in Oxygen Radicals and Radioprotectors*. BRECCIA, A., GREENSTOCK, C.L., TAMBA, M. (eds.). Lo Scarabeo, Bologna. pp. 29-45.
- 249*
HABIG, W.H., JAKOBY, W.B.: Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Meth. Enzymol.* 1981. 77:398-405.
- 250*
LAWRENCE, R.A., BURK, R.F.: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980. 71:952-960.
- 251*
KATKI, A.G., MYERS, C.E.: Membrane-bound glutathione peroxidase-like activity in mitochondria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980. 96:85-91.
- 252*
FRIDOVICH, J.: Superoxide dismutase. *Adv. enzymol.* 1974. 41:35-97.
- 253*
HASSAN, H.M., FRIDOVICH, I.: Superoxide radical and the oxygen enhancement of the toxicity of paraquat in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 1976. 253:8143-8148.
- 254*
KRIZALA, J., STOKLASOVA, A., KOVAROVA, W., LEDVINA, M.: The effect of gamma-irradiation and cystamine on superoxide dismutase activity in the bone marrow and erythrocytes of rats. *Radiat. Res.* 1982. 91:507-515.
- 255*
SCHWEITZER, K., BENKO, G., BOHOS, P.: Investigations into the superoxide dismutase (SOD) activity of human erythrocytes at work places exposed to radiation hazard. *Radiobiol. Radiother.* 1985. 26:629-632.

256*

PETKAU,A.: Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. *Br. J. Cancer*.1987. 55(Suppl. VIII):87-95.

257*

SAVITSKII,I.V.,MUSIIKO,V.A.,ERIGOVA,S.G.: Changes in fructose diphosphate aldolase and glucose 6-phosphate dehydrogenase activity after irradiation of animals with an absolutely lethal dose of gamma rays. *Radiobiologia*.1985.25:245-249.

258*

SZEINFELD,D.,BLEKKENHORST,G.: Effect of X-irradiation on adenosine triphosphate and glucose 6-phosphate dehydrogenase in the CaNT mouse tumor. *Radiat. Res.*.1987.110:305-309.

259*

MICHELSON,A.M.,BUCKINGHAM,M.E.: Effects of superoxide radiacals on myoblast growth and differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*.1974.58:1079-1086.

260*

PETKAU,A.,CHELACK,W.S.: Radioprotective effect of superoxide dismutase on model phospholipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta*.1976.433:445-451.

261*

PETKAU,A.,CHELACK,W.S.: Radioprotection by superoxide dismutase of macrophage progenitor cells from mouse bone marrow. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*.1984.119:1089-1094.

262*

BOREK,C.: The role of nutritional factors in cellular protection against DNA damage, altered gene expression and malignant transformation. *En:Mechanisms of DNA Damage and Repair: Implications for Carcinogenesis and Risk Assessment*. SIMIC,M.G.,GROSSMAN,L.,UPTON,A.C. (eds.). Plenum Press,New York.1986.pp.557-562.

263*

KENNEDY,A.R.,TROLL,W.,LITTLE,J.B.: Role of free radicals in the initiation and promotion of radiation transformation in vitro. *Carcinogenesis*.1984.5:1213-1218.

264*

KUMAR,K.S.,WEISS,J.F.: Inhibition of glutathione peroxidase and glutathione transferase in mouse liver by misonidazole. *Biochem. Pharmacol.*.1986.35:3143-3146.

265*

JACOBS, A. J., RANKIN, W. A., SIRINIVASAN, V., WEISS, J. F.: Effects of vitamin E and selenium on glutathione peroxidase activity and survival of irradiated mice. En: Proceedings of 7th International Congress on Radiation Research. BROERSE, J. J., BARENSEN, G. W., KAL, H. B., VAN DER KOGEL, A. J. (eds.). Martinus Nijhof, Amsterdam. 1983. pp. D5-15.

266*

GRAY, B. H., STULL, R. W.: Radioprotection by polyethylenglycol-protein complexes in mice. Radiat. Res. 1983. 93:581-587.

267*

BOREK, C., TROLL, W.: Modifiers of free radicals inhibit in vitro the oncogenic actions of X-rays, bleomycin and tumor promoter 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1983. 80:1304-1307.

268*

OBERLEY, L. W., SIERRA, E.: Radiation sensitivity testing of cultured eukaryotic cells. En: Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. GREENWALD, R. A. (ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida. 1985. pp. 417-422.

269*

SORENSEN, J. R. J.: Bis(3,5 diisopropyl salicylato)copper, a potent radioprotectant with superoxide dismutase mimetic activity. J. Med. Chem. 1984. 27:1747-1749.

270*

STEEL, L. K., SENEVIRATNE, S., JACKSON, W. E. III: Toxicity and radioprotective efficacy of bis (3,5-diisopropylsalicylato) copper II and CuCl₂. En: Anticarcinogens and Radiation Protection. CERUTI, P. A., NYGAARD, O. F., SIMIC, M. G. (eds.). Plenum Press, New York. 1989.

271*

WIECZOREK, Z., GIELDANOWSKI, J., ZIMECKI, M., MIODUSZEWSKI, J. Z., SZYMANIEC, S., DACZYNSKA, R.: Radioprotective activity of the complex of bivalent copper with 3-mercapto-2-hydroxypropyl ether of dextran(C79). Arch. Immunol. Ther. Exp. 1983. 31:715-729.

272*

OBERLEY, L. W., LEUTHAUSER, S. W. C., PASTERNAK, R. F., OBERLEY, T. D., SHUTT, L., SORENSEN, J. R. J.: Anticancer activity of metal compounds with superoxide dismutase activity. Agents Actions. 1984. 15:535-538.

273*

EVANS,R.G.: Tumor radiosensitization with concomitant bone marrow radioprotection: A study in mice using diethyldithiocarbamate (DDC) under oxygenated and hypoxic conditions. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.*. 1985. 11:1163-1169.

274*

KUMAR,K.S.,SANCHO,A.M.,WEISS,J.F.: A novel interaction of diethyldithiocarbamate with the glutathione/glutathione peroxidase system. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*. 1986. 12:1463-1467.

275*

HEIKKILA,R.E.,CABBAT,F.S.,COHEN,G.: In vivo inhibition of superoxide dismutase in mice by diethyldithiocarbamate. *J. Biol. Chem.*.1976.251:2182-2185.

276*

OBERLEY,L.W., LEUTHAUSER,W.H.C., BUETTNER,G.R., SORENSON,J.R.J., OBERLEY,T.D., BIZE,I.B.: The use of superoxide dismutase in the treatment of cancer. *En:Pathobiology of Oxygen.* AUTOR,A.P.(ed.). Academic Press,New York.1982. pp.207-221.

277*

GLICK,J.H., GLOVER,D.J., TURRISI,A., WEILER,C., YUHAS,J.M., KLIGERMAN,M.: Clinical trials of WR-2721 with chemotherapy. *En:Radioprotectors and Anticarcinogens.* NYGAARD,O.F.,SIMIC,M.G. (eds.). Academic Press,New York.1983. pp.719-734.

278*

WEISS,J.F.,HOOVER,R.L.,FUMAR,K.S.: Selenium pretreatment enhances the radioprotective effect and reduces the lethal toxicity of WR-2721. *Free Rad. Res. Commun.*.1987.3:33-38.

279*

GARCIA-ALEJO,R., URBINA,R., FUENTES,M., MARTIN,M.J., PARDO,J., CHAMORRO, G.: El ácido ascórbico como radioprotector en pacientes con cancer de cabeza y cuello.Comunicación presentada en la IV Reunión de Investigación del Hospital Militar Central "GOMEZ ULLA".Madrid.1.987.

280*

RALEIGH,J.A.: Radioprotection of membranes. *Pharmac. Ther.*. Pergamon Press,Oxford.1988.39:109-113.

281*

BURTON,G.W.,INGOLD,K.U.: Vitamin E:Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Accts. Chem. Res.*.1986.19:194-201.

282*

NANNI, E. J. Jr., STALLINGS, M. D., SAWYER, D. T.: Does superoxide ion oxidize catechol, alfa-tocoferol, and ascorbic acid by direct electron transfer?. *J. Am. Chem. Soc.* 1980.102:4481-4485.

283*

FUKUZAWA, K., GEBICKI, J. M.: Oxidation of alfa-tocoferol in micelles and liposomes by the hydroxyl, perhydroxyl and superoxide free radicals. *Arch. Biochem. Biophys.* 1983.226:242-251.

284*

RALEIGH, J. A., SHUM, F. Y.: Radiprotection in model lipid membranes by hydroxyl radical scavengers: Supplementary role of alfa-tocopherol in scavenging secondary peroxy radicals. En: *Radioprotectors and Anticarcinogens*. NYGAARD, O. F., SIMIC, M. G. (eds.). Academic Press, New York. 1983. pp. 87-102.

285*

MILLER, G. G., RALEIGH, J. A.: Action of some hydroxyl radical scavengers on radiation-induced haemolysis. *Int. J. Radiat. Biol.* 1983.43:411-419.

286*

BROWN, M. A.: Resistance of human erythrocytes containing elevated levels of vitamin E to radiation-induced hemolysis. *Radiat. Res.* 1983.95:303-315.

287*

PRINCE, E. W., LITTLE, J. B.: The effect of dietary fatty acids and tocopherol on the radiosensitivity of mammalian erythrocytes. *Radiat. Resc.* 1973.53:49-64.

288*

HUIJBERS, W. A. R., OOSTERBAAN, J. A., MESKENDORP-HAARSMA, T. J., HARDONK, M. J., MOLENAAR, I.: An ultrastructural and cytochemical study of membrane alterations in X-irradiated liver tissue from normal and vitamin E deficient ducklings. *Radiat. Res.* 1979.78:502-513.

289*

KONINGS, A. W. T., OOSTERLOO, S. K.: Radiation effects in membranes. II. A comparison of the effects of X-irradiation exposure with respect to the relation of antioxidant concentration and the capacity for lipid peroxidation. *Radiat. Res.* 1980.81:200-207.

290*

FARRELL, P. M.: Deficiency states, pharmacological effects and nutrient requirements. En: *Vitamin E. A Comprehensive Treatise*. MACHLIN, L. J. (ed.). Marcel Dekker, New York. 1980. pp. 520-560.

291*

MALICK, M.A., ROY, R.M., STERNBERG, J.: Effect of vitamin E on post-irradiation death in mice. *Experientia*. 1978. 34:1216-1217.

292*

ROY, R.M., MALICK, A.M., CLARK, G.M.: Increased haematopoietic stem cell survival in mice injected with tocopherol after X-irradiation. *Strahlentherapie*. 1982. 158:312-318.

293*

STRATFORD, F., SEIFTER, E., RETTURA, G., LEVENSON, S.M.: Impaired wound healing due to cyclophosphamide: Alleviation by supplemental vitamin A. *Surg. Forum*. 1980. 31:224-225.

294*

WEINZWEIG, J., WEINZWEIG, N., LEVENSON, S.M., MENDECKI, J., GOODWIN, P., SEIFTER, E.: Prevention of the tumor-induced wound healing defect by supplemental vitamin A. *Fed. Proc.* 1987. 46(4):5087.

295*

SEIFTER, E., RETTURA, G., PADAWER, J., STRATFORD, F., GOODWIN, P., LEVENSON, S.M.: regression of C3HBA mouse tumor due to X-ray therapy combined with supplemental beta-carotene or vitamin A. *J. Natl. Cancer Inst.* 1983. 71:409-417.

296*

SEIFTER, E., RETTURA, G., PADAWER, J., STRATFORD, F., WEINZWEIG, J., DEMETRIOU, A.A., LEVENSON, S.M.: Morbidity and mortality reduction by supplemental vitamin A or beta-carotene in CBA mice given total-body gamma-radiation. *J. Natl. Cancer Inst.* 1984. 73:1167-1177.

297*

LEVENSON, S.M., GRUBER, C.A., RETTURA, G., GRUBER, D.K., DEMETRIOU, A.A., SEIFTER, E.: Supplemental vitamin A prevents the acute radiation-induced defect in wound healing. *Ann. Surg.* 1984. 200:494-512.

298*

SELYE, H., SZABO, S.: Experimental model for production of perforating duodenal ulcers by cysteamine in the rat. *Nature*. 1973. 244:458-460.

299*

MAHMOOD, T., TENENBAUM, S., NIU, X.T., LEVENSON, S.M., SEIFTER, E., DEMETRIOU, A.A.: Prevention of duodenal ulcer formation in the rat by dietary vitamin A supplementation. *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 1986. 10:74-77.

300*

SEIFTER, E., MENDECKI, J., HOLTZMAN, S., KANOFSKI, J.D., FRIEDENTHAL, E., DAVIS, L., WEINZWEIG, J.: Role of vitamin A and beta-carotene in radiation protection: Relation to antioxidant properties. *Pharmac. Ther.*. Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:357-365.

301*

TESTER, W.J., KINSELLA, T.J., WALLER, B., MAKUCH, R.W., KELLEY, P.A., DE VITA, V.T.: Second malignant neoplasms complicating Hodgkin's disease: The National Cancer Institute Experience. *J. Clin. Oncol.*. 1984. 2:762-769.

302*

SEIFTER, E., RETTURA, G., LEVENSON, S.M.: Carotenoids and cell-mediated immune responses. In: *The Quality of Food and Beverages*. CHARALAMBOUS, G., INGLETT, G. (eds.). Academic Press, New York. 1981. pp. 335-347.

303*

TANNOCK, I.F., SUIT, H.D., MARSHALL, N.: Vitamin A and the radiation response of experimental tumors: An immune-mediated effect. *J. Natl. Cancer Inst.*. 1972. 48:731-741.

304*

AINSWORTH, E.J.: From endotoxins to newer immunomodulators: Survival promoting effects of microbial polysaccharide complexes in irradiated animals. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988; vol. 39:223-241.

305*

MEFFERD, R.B., HERKEL, D.T., LOEFER, J.B.: Effect of piromen on survival in irradiated mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*. 1953. 83:54-56.

306*

TORRENCE, P.: *Biological response modifiers*. Academic Press, New York. 1985.

307*

SCOTT, M.: *Corynebacterium parvum* as a therapeutic antitumor agent in mice. I. Systemic effects of intravenous injection. *J. Natl. Cancer Inst.*. 1974. 53:855-860.

308*

RIBI, E.: Beneficial modification of the endotoxin molecule. *J. Biol. Response Mod.*. 1984. 3:1-9.

309*

MANSELL, P., KLEMENTZ, E.: Reaction to BCG. *JAMA*. 1973. 226:1570-1571.

310*

THOMAS, L.: The physiological disturbances produced by endotoxins. *An. Rev. Physiol.* 1954. 16:467-490.

311*

NOWOTNY, A.: In search of the active sites in edotoxins. En: *Beneficial Effects of Endotoxins*. Plenum Press, New York. 1983. pp. 1-55.

312*

AINSWORTH, E. J., MITCHELL, F. A.: Decreased radiation mortality in dogs treated with typhoid-paratyphoid vaccine. *Nature*. 1966. 210:321-323.

313*

HAMMOND, C. W., TOMPKINS, M., MILLER, C. P.: Studies on susceptibility to infection following ionizing radiation. *J. Exp. Med.* 1954. 99:405-410.

314*

TALAMGE, D. W.: Effect of ionizing radiation on resistance and infection. *Ann. Rev. Microbiol.* 1955. 9:335-346.

315*

LAURELL, G., PHILIPSON, L.: Treatment of post-irradiation infections in mice: the effect of streptomycin and myelopoietic-stimulating substances. *Acta. Phatol. Microbiol. Immunol.* 1956. 38:58-68.

316*

PILLEMER, L., SCHOENBERG, M. D., BLUM, L., WURZ, L.: Properdin system and immunity-II. Interaction of the properdin system with polysaccharides. *Science*. 1955. 122:545-549.

317*

ROWLEY, D.: Rapidly induced changes in level of non-specific immunity in laboratory animals. *Br. J. Exp. Phatol.* 1956. 37:223-234.

318*

PARANT, M.: Effect of LPS on nonspecific resistance to bacterial infections. En: *Beneficial Effects of Endotoxins*. Plenum Press, New York. 1983. pp. 179-196.

319*

ROSS, O. A.: The properdin system in relation to fatal bacteriemia following total-body irradiation of laboratory animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1956. 66:274-279.

320*

SMITH, W. W., ALDERMAN, I. M., GILLESPIE, R. E.: Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. *Am. J. Physiol.* 1957. 191:124-130.

321*

AINSWORTH, E.J.: Decreased radiation mortality in mice treated with microbial antigens. Ph. D. Thesis, Brown University. 1959.

322*

AINSWORTH, E.J., HATCH, M.H.: Decreased x-ray mortality in endotoxin-treated mice. Radiat. Res. 1958.9:96.

323*

ZWEIFACH, B.W., KIVI-ROSENBERG, E., NEGLER, A.L.: Resistance to whole-body X-irradiation in rats made tolerant to bacterial endotoxins. Am. J. Physiol. 1959.197:1364-1370.

324*

AINSWORTH, E.J., HATCH, M.H.: The effect of *Proteus morgani* endotoxin on radiation mortality in mice. Radiat. Res. 1960. 13:632-638.

325

AINSWORTH, E.J., CHASE, H.B.: Effect of microbial antigens on irradiation mortality in mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1959. 102:483-485.

326*

AINSWORTH, E.J., FORBES, D.P.: The effect of *Pseudomonas pyrogen* on survival of irradiated mice. Radiat. Res. 1961.14:767-774.

327*

SMITH, W.W., ALDERMAN, I.M., GILLESPIE, R.E.: Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. Am. J. Physiol. 1957.191:124-130.

328*

SMITH, W.W., ALDERMAN, I.M., GILLESPIE, R.E.: Hematopoietic recovery induced by bacterial endotoxin in irradiated mice. Am. J. Physiol. 1958.192:549-556.

329*

SMITH, W.W., ALDERMAN, I.M., GILLESPIE, R.E.: Resistance to experimental infection and mobilization of granulocytes in irradiated mice treated with bacterial endotoxin. Am. J. Physiol. 1958.192:263-267.

330*

SMITH, W.W., ALDERMAN, I.M., CORNFIELD, J.: Granulocyte release by endotoxin in normal and irradiated mice. Am. J. Physiol. 1961. 201:396-402.

331*

FORSSBERG, A., ERNSTER, L.L., LINDBERG, O.: Modification of the X-irradiation syndrome by licopene. Exp. Cell. Res. 1959. 16:7-14.

332*

LANDY, M.: Increase in resistance following administration of bacterial lipopolysaccharides. *Am. N. Y. Acad. Sci.* 1956. 66:292-303.

333*

BLONDAL, H.: Protective and therapeutic effects of bacterial polysaccharides in irradiation injury in mice. *Radiat. Res.* 1959.11:582-586.

334*

HANKS, G.E., AINSWORTH, E.J.: Endotoxin protection and colony-forming units. *Radiat. Res.* 1967. 32:367-382.

335*

AINSWORTH, E.J., LARSEN, R.M.: Colony-forming units and survival of irradiated mice treated with AET or endotoxin. *Radiat. Res.* 1969. 40:149-176.

336*

LANGENDORFF, H., LANGENDORFF, M., WECKESSER, J., STEINBACH, K.H.: Bakterielle Lipopolysaccharide und Ihre Strukturkomponenten als Strahlenresistenz erhöhende Substanzen. *Acta. Radiol.* 1971. 310:173-180.

337*

LANGENDORFF, H., LANGENDORFF, M., WECKESSER, J., STEINBACH, K.H.: Die Wirkung einzelne Strukturkomponenten von bakteriellen Lipopolysacchariden auf die Strahlenempfindlichkeit der Maus. *Strahlentherapie.* 1971.141:457-463.

338*

AINSWORTH, E.J., LARSEN, R.M., MITCHELL, F.A., TAYLOR, J.F.: Survival-promoting effects of endotoxin in mice, dogs, and sheep. In: *Radiation Protection and Sensitization. Proceedings of the Second International Symposium on Radiosensitizing and Radio-Protective Drugs.* MOROSON, H.L., QUINTILIANI, M. (eds.). Taylor & Francis, London. 1970. pp.381-388.

339*

DUPLISCEVA, A.P., SINILOVA, N.G., IVANOV, K.K.: Die Strahlenresistenz von Tieren bei Injektion von Polysacchariden O-somatischer Antigene von Bakterien der Darmgruppe. *Radiobiol. Radiother.* 1972.1:113-122.

340*

PERKINS, E.H., MARCUS, S., GYI, K.K., MIYA, F.: Effect of pyrogen on phagocytic digestion and survival of X-irradiated mice. *Radiat. Res.* 1958.8:502-508.

341*

WOOLLES, W.R., ELKO, E.E., DiLUZIO, N.R.: Influence of pre and post X-irradiation zymosan administration on reticuloendothelial function. *Radiat. Res.* 1962.16:546-554.

342*

DiLUZIO, N.R., PISANO, J.C., SABA, T.M.: Evaluation of the mechanism of glucan-induced stimulation of the reticuloendothelial system. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1970.7:731.

343*

PATCHEN, M.L., MACVITTIE, T.J.: Comparative effects of soluble and particulate glucans on survival in irradiated mice. *J. Biol. Response Mod.* 1986.5:45-60.

344*

PATCHEN, M.L., D'ALESSANDRO, M.M., BROOK, I., BLAKELY, W.F., MACVITTIE, T.J.: Glucan: mechanisms involved in its "radioprotective" effect. *J. Leukocyte Biol.* 1987.42:95-105.

345*

CROKITE, E.P., BRECHER, G.: The protective effect of granulocytes in radiation injury. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1955.59:815-833.

346*

SMITH, F., SMITH, W.W., ALDRMAN, I.M.: The effect of parenteral injection of particulate matter on survival in X-irradiated animals. *Am. J. Physiol.* 1955.182:396-401.

347*

DILUZIO, N.R., WILLIAMS, D.L., McNAMEE, R.B., EDWARDS, B.F., KILAHAMA, A.: Comparative tumor inhibitory and antibacterial activity of soluble and particulate glucan. *Int. J. Cancer.* 1979.24:773-779.

348*

COOK, J.A., TAYLOR, D., COHEN, C., RODRIGUE, J., MELSHET, V., DiLUZIO, N.R.: Comparative evaluation of the role of macrophages and lymphocytes in mediating the antitumor action of glucan. *En: Immune Modulation and Control of Neoplasia by Adjuvant Therapy.* CHIRIGOS, M.A. (ed.). Raven Press, New York. 1978. pp.183-194.

349*

WOOLLES, W.R., DiLUZZIO, M.R.: Reticuloendothelial functions and the immune response. *Science.* 1963.142:178-180.

350*

GALLIN, E.K., GREEN, S.W.: Exposure to gamma-irradiation increases phorbol myristate acetate-induced H₂O₂ production in human macrophages. *Blood.* 1987.70:694-701.

- 351*
 GRIFFIN, F.M.: Mononuclear cell phagocyte mechanisms and host defense. *Adv. Host. Def. Mech.* 1982.1:31-55.
- 352*
 REICHARD, S.M., FILKENS, J.P.: the Reticuloendothelial System: Physiology. Plenum Press, New York. 1984.
- 353*
 PATCHEN, M.L., D'ALESSANDRO, M.H., CHIRIGAS, M.A., WEISS, J.F.: Radioprotection by biological response modifiers. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press. Oxford. 1988.39:247-254.
- 354*
 WOOLLES, W.R., DiLUZIO, N.R.: Reticuloendothelial function and the immune response. *Science.* 1963.14:1078-1080.
- 355*
 WOOLLES, W.R., DiLUZIO, N.R.: The phagocytic and proliferative response of the RES following glucan administration. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1964.1:160-169.
- 356*
 GILBERT, K., CHU, F., JONES, E., DiLUZIO, N.R.: Fate of ¹⁴C-glucan in normal and acute myelogenous leukemic rats. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1977.22:319-327.
- 357*
 CZOP, J.K., AUSTIN, K.F.: A beta-glucan inhibitable receptor on human monocytes: Its identity with the phagocytic receptor for particulate activators of the alternate complement pathway. *J. Immunol.* 1985.134:2588-2593.
- 358*
 ABEL, G., DORA, C., NAGY, S., SZOLLOSI, J., PATCHEN, M., CHIHARA, G., FACHET, J.: Stimulation of endocytotic activity of murine macrophages via specific receptors by different types of glucans. *Proc. Eighth European Immunology Meeting.* 1988.
- 359*
 DiLUZIO, R.: Evaluation by the graft-vs-host reaction of the immune competence of lymphoid cells of mice with altered reticuloendothelial function. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1967. 4:459-475.
- 360*
 PATCHEN, M.L., LOTZOVA, E.: Modulation of murine hemopoiesis by glucan. *Exp. Hematol.* 1980.8:409-422.

361*

PATCHEN, M.L., MACVITTIE, T.J.: Dose-dependent responses of murine pluripotent stem cells and myeloid and erythroid progenitor cells following administration of the immunomodulating agent. *Immunopharmacology*. 1983.5:303-313.

362*

POSPISIL, M., JARY, J., NETIKOVA, J., MAREK, M.: Glucan-induced enhancement of hemopoietic recovery in gamma-irradiated mice. *Experientia*. 1982.38:1232-1234.

363*

PATCHEN, M.L., MACVITTIE, T.J.: Stimulated hemopoiesis and enhanced survival following glucan treatment in sublethally and lethally irradiated mice. *Int. J. Immunopharmac.* 1985.7:923-932.

364*

BURGALETA, C., GOLDE, D.W.: Effect of glucan on granulopoiesis and macrophage genesis in mice. *Cancer Res.* 1977.37:1739-1742.

365*

BURGALETA, C., GOLDE, D.W.: Increased granulopoiesis and macrophage production in glucan-treated mice. En: *Immune Modulation and Control of Neoplasia by Adjuvant Therapy*. CHIRIGOS, M.A. (ed). Raven Press, New York. 1978. pp.195-200.

366*

NISKANEN, E.O., BUEGALETA, C., CLINE, M., GOLDE, D.W.: Effect of glucan, a macrophage activator, on murine hemopoietic cell proliferation in diffusion chambers in mice. *Cancer Res.* 1978.38:1406-1409.

367*

PATCHEN, M.L., DiLUZIO, N.R., JACQUES, P., MACVITTIE, T.J.: Soluble polyglucans enhance recovery from cobalt-60-induced hemopoietic injury. *J. Biol. Response Mod.* 1984.3:627-633.

368*

LIU, P.I., PEON, K.C., LIU, S.S.: In vitro effect of glucan on mouse hemopoietic committed progenitor cells. *Life Sci.* 1981.29:1027-1032.

369*

DiLUZIO, N.R.: Immunopharmacology of glucan: A broad spectrum enhancer of host defense mechanisms. *Trends. Pharmac. Sci.* 1983.4:344-347.

370*

SNYDER, S.L., WALDEN, T.L., PATCHEN, M.L., MACVITTIE, T.J., FUCHS, P.: Radioprotective properties of detoxified lipid A from *Salmonella minnesota R595*. *Radiat. Res.* 1986.107:107-114.

371*

MAISIN, J.R., KONDI-TAMBA, A., MATTELIN, G.: Polysaccharides induce radioprotection of murine hemopoietic stem cells and increase the LD 50/30 days. *Radiat. Res.* 1986.105:276-281.

372*

MAISIN, J.R., TOPALOVA, S., KONDI-TAMBA, A., MATTELIN, G.: Radioprotection by polysaccharides. *Pharmac. Ther. Pergamon Press, Oxford.* 1988. 39:255-259.

373*

CHIRIGOS, M.A., PATCHEN, M.A.: Survey of newer biological response modifiers for possible use in radioprotection. *Pharmac. Ther. Pergamon Press, Oxford.* 1988.39:243-246.

374*

CHIRIGOS, M.A., SAITO, E., SCHILICK, E., RUFFMAN, R.: Cellular regulation by immunomodifiers MVE2 and Poly ICLC and their therapeutic application. *Cancer Treatment Symp.* 1985.1:11-18.

375*

CHIRIGOS, M.A., MASTRANGELO, M.J., MITCHELL, M., KRIM, M. (eds.) : Progress in Cancer Research and Therapy. Mediation of Cellular Immunity in Cancer by Immune Modifiers. Raven Press, New York. 1982. vol. 19.

376*

HERSH, E.M., CHIRIGOS, M.A., MASTRANGELO, M.J. (eds.) : Progress in Cancer Research and Therapy. Augmenting Agents in Cancer Therapy. Raven Press, New York. 1981. vol.16.

377*

FENICHEL, R.L., CHIRIGOS, M.A. (eds.) : Immune Modulating Agents and Their Mechanisms. Marcel Dekker, New York. 1984. vol. 25.

378*

BLACKETT, N.M., MARSH, J.C., GORDAN, M.Y., OKELL, S.F., AQUADO, M. : Simultaneous assay by six methods of the effect of haemopoietic precursor cells of adriamycin, methyl-CCNU, ⁶⁰Co-gamma-rays, vinblastine and cytosine arabinoside. *Exp. Hematol.* 1978. 6:2-8.

379*

LOHRMAN, H.P., SCHREMYL, W.: Cytotoxic drugs and the granulopoietic system. Recent results. *Cancer Res.* 1982.81:1-22.

380*

PATCHEN, M.L., CHIRIGOS, M.A., BROOK, I.: Use of glucan and sixteen other immunopharmaceutical agents in prevention of acute radiation injury. *Comments Toxicol.* 1.988.

- 381*
 CAMPBELL-SMITH,S. (ed.): Linfokinas ¿qué son?. Cancer Care. Ergon Ediciones. vol. 3 .3:11.
- 382*
 OPPENHEIM,J.J.,COHEN,S. (eds.): Interleukins, Linphokines and Citokines. Proceedings of the Third Inaternational Lymphokine Workshop. Academic Press,New York.1983.
- 383*
 NETA,R., VOGEL,S.N., SIPE,J.D., OPPENHEIM,J.J., GICLAS,P.C., DOUCHES,S.D.: Comparison of the in vivo effects o rIL-1 and rTNF in radioprotection,induction of CSF and of acute phase reactants. Fed. Proc. 1.978;46:1200 (abs).
- 384*
 NETA,R.: Role of citokines in radioprotection. En:Weiss,J.F.,Simic,M.G.,ed.Pharmacology and Therapeutics. Oxford:Pergamon Press.1.988.vol.39:261-266.
- 385*
 GOLDBLATT,M.V.: Pproperties of human seminal plasma. J. Physiol (Lond.).1935.84:208-225.
- 386*
 VON EULER,U.S.: On the specific vasodilating and plain muscle stimulating substances fron accessory glands in man and certain animals (prostaglandins and vesiglandin). J. Physiol (Lond.). 1936.88:213.
- 387*
 BERGSTROM,S.,SJOVALL,J.: The isolation of prostaglandin. Acta Chem. Scand..1957.11:1086.
- 388*
 SAMUELSSON,B.: Biosynthesis of prostaglandins. Fed. Proc. 1972. 31:1442-1451.
- 389*
 LANDS,W.E.M.: The biosynthesis and metabolism of prostaglandins. Annu. Rev. Physiol. 1979.41:633-652.
- 390*
 SAMUELSSON,B.: Prostaglandins,thromboxanes and leukotrienes: biochemical pathways. In: Prostaglandins and Related Lipids. POWLES,T.J.,BOCKMAN,R.S.,HONN,K.V.,RAMWELL,P. (eds.) Alan R. Liss,New York.1982.Vol. 1:1-19.

391*

HANSON,W.R.,HOUSEMAN,K.A.,COLLINS,P.W.: Radiation protection in vivo by prostaglandins and related compounds of the arachidonic acid cascade. Pharmac. Ther. Pergamon Press,Oxford. 39:476-356.

392*

COLLIER,H.O.J.: Prostaglandin synthetase function,pain and drug action. In:Prostaglandin and Related Lipids. RAMWELL,P. (ed.) Alan R. Liss,New York. 1980.1:87-115.

393*

PRASAD,K.N.: Radioprotective effect of prostaglandin and an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase on mammalian cells in culture. Int. J. Radiat. Biol.1.972;22:187-189.

394*

LEHNERT,S.: Modification of postirradiation survival of mammalian cells by intracellular cyclic AMP. Radiat. Resc. 1975.62:107-116.

395*

HOLAHAN,E.V.,BLAKELY,W.F.,WALDEN,T.L.: Effect of PGE2 on radiation response of chinese hamster cells in vitro. In: Prostaglandin and >Lipid Metabolism in Radiation Injury. WALDEN,T.I.Jr.,HUGHES,H.N.(eds.). Plenum Publishing Corp.,New York.1987.pp:253-262.

396*

MILLAR,B.C.,JINKS,S.: Do prostaglandins affect cellular radiosensitivity in vitro?. Int. J. Radiat. Biol. 1984. 46:367-373.

397*

HANSON,W.R.,THOMAS,C.: 16-16-Dimethyl prostaglandin E2 increases survival of murine intestinal stem cells when given before photon radiation. Radiat. Res. 1983.96:393-398.

398*

HANSON,W.R.: Radiation protection by exogenous arachidonic acid and several metabolites. En: Prostaglandin and Lipid Metabolism in Radiation Injury. WALDEN,T.L.Jr.,HUGHES,H.N. (eds.) Planum Publishing Corp.,New York.1987.pp:233-243.

399*

HANSON,W.R.,DELAURENTIS,K.: Comparison of in vivo murine intestinal radiation protection by E-prostaglandins. Prostaglandins.1987.33(Suppl.):93-104.

400*

HANSON,W.R.:Radioprotection of murine intestine by WR-2721, 16,16-dimethyl prostaglandin E2 and the combination of both agents. Radiat. Res.1987.111:361-373.

401*

WALDEN,T.L.Jr.,PATCHEN,M.,SNYDER,S.L.: 16,16-Dimethyl prostaglandin E2 increases survival in mice following irradiation. Radiat. Resc. 1987.109:540-549.

402*

NETA,R., OPPENHEIM,J.J., DOUCHES,S.D., GICLAS,P.C., IMBRA,R.J., KARIN,M.: Radioprotection with IL-1. Comparison with other cytokines. Prog. Immunol. 1987.6:900-908.

403*

KUEHL,F.A.Jr,HUNES,J.L.: Direct evidence for a prostaglandin receptor and its application to prostaglandin measurements. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1.972; 69:480-491.

404*

GORMAN,R.R.,MILLER,O.V.: Specific prostaglandin E1 and A1 binding sites in rat adipocyte plasma membranes.Biochim.Biophys. Acta 1.973;132:560-571.

405*

WARD,J.F.: Chemical aspects of DNA radioprotection. In:Radioprotectors and anticarcinogens. NYGAARD,O.F.,SIMIC,M.G. (eds.). Academic Press,New York. 1983.pp:73-85.

406*

ALPER,T.: Chemical protection. En: Cellular Radiobiology. Cambridge University Press.Cambridge.1979.pp:87-100.

407*

MILAS,L.,HUNTER,N.,ITO,H.,TRAVIS,E.L.,PETERS,L.J.: Factors influencing radioprotection of tumors by WR-2721.En:Nyagard,O.F.,Simic.M.G. ed.Radioprotectors and Anticarcinogens. Academic Press,New York.1.983;vol 39:695-718.

408*

YOUNG,R.W.: Mechanisms and treatement of radiation- induced nausea and vomting. En: DAVIS, C.J., LAKE-BAKAAR, G.V., GRAHAME-SMITH,G.V. (eds.): Nausea and Vomiting: Mechanisms and Treatment. Springer, New York.1986. pp. 94-109

409*

YOUNG, R.W.: Acute radiation syndrome. En: CONKLIN,J.J., WALKER,R.I. (eds.). Military Radiobiology, Academic Press, Orlando, Florida. 1987. pp.165-190.

410*

COURT-BROWN, W.M., MAHLER, R.F.: Discussion on the radiation syndrome. *Pro. R. Soc. Lond.* 1953. 46:245-250.

411*

LUSHBAUGH, C.C., COMAS, F., HOFSTRA, R.: Clinical studies of radiation effects on man: A preliminary report of a retrospective search for dose-relationships in the prodromal syndrome. *Radiat. Res.* 1967. 7:398-412.

412*

GRANT, G.A., CAIRNIE, A.B., HARDING, R.K., GRIDGEMAN, N.T., RIDER, W.D.: A Predictive Study of the Incidence of Vomiting in Irradiated Military Personnel, DREO Report No 817. Defence Research Establishment Ottawa, Department of National Defence, Ottawa, Canada. 1979

413*

BARNES, J.H.: The physiology and pharmacology of emesis. *Mol. Aspects Med.* 1984. 7:397-508.

414*

GRALLA, R.J., SABO, J.P., HAYDEN, D.W., YOCHMOWITZ, M.G., MATTSSON, J.L.: The effect of selected drugs in first-stage radioemesis in beagle dogs. *Radiat. Res.* 1979. 78:286-295.

415*

McNABB, D.: Radiation sickness-A new approach to management. *Radiography.* 1978. 44:239-240.

416*

WHITMAN, J.G., MORGAN, M., OWENS, J.R., GOOLDEN, A.W.G., SPIERS, A.S.D., GOLDMAN, J.M., y GORDON-SMITH, E.C.: General anaesthesia for high-dose total-body irradiation. *Lancet* 1978:128-129.

417*

BARRETT, A.: Total body irradiation (TBI) before bone marrow transplantation in leukaemia: A co-operative study from the European group for bone marrow transplantation. *Br. J. Radiol.* 1982. 55:562-567.

418*

MORROW, G.R.: Prevalence and correlates of anticipatory nausea and vomiting in chemotherapy patients. *J. Natn. Cancer Inst.* 1982. 68:585-588.

419*

CARRELL, L.E., CANNON, D.S., BEST, M.R., STONE, M.J.: Nausea and radiation-induced taste aversions in cancer patients. *Appetite.* 1986. 7:203-208.

420*

PATER, J.L., WILLAN, A.R.: Methodologic issue in trials of antiemetics. *J.Clin. Oncol.* 1984. 2:484-487.

421*

HARDING, R.K.: Prodromal effects of radiation: Pathways, models, and protection by antiemetics. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press. Oxford. 1988. 39:335-345.

422*

COOPER, J.R., MATTSSON, J.L.: Control of radiation-induced emesis with promethazine, cimetidine, thiethylperazine, or naloxone. *Am. J. Vet. Res.* 1979. 40:1057-1061.

423*

MATTSSON, J.L., CORDTS, R.E., YOCHMOWITZ, M.J., HARDY, K.A.: Prevention of radiation emesis in dogs by combinations of drugs. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1984. 10:1067-1072.

424*

BRIGDEN, M.L., WILSON, K.S., BARNETT, J.B.: Rational choice of antiemetic agents during cancer chemotherapy. *J. Can. Fam. Physic.* 1983. 29:1682-1686.

425*

SALAZAR, O.M., RUBIN, P., KELLER, B., SCARANTINO, C.: Systemic (half-body) radiation therapy: Response and toxicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1978. 4:937-950.

426*

DANJOUX, C.E., RIDER, W.D., FITZPATRICK, P.J.: The acute radiation syndrome-A memorial to William Michael Court-Brown. *Clin. Radiol.* 1979. 30:581-584.

427*

GRALLA, R.J., ITRI, L.M., PISKO, S.E., SQUILLANTE, A.E., KELSEN, D.P., BRAUN, D.W., BORDIN, L.A., BRAUN, T.J., YOUNG, C.W.: Antiemetic efficacy of high-dose metoclopramide: Randomized trials with placebo and prochlorperazine in patients with chemotherapy-induced nausea and vomiting. *N. Engl. J. Med.* 1981. 305:905-909.

428*

FIORE, J.J., GRALLA, R.J.: Pharmacologic treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Cancer Invest.* 1984. 2:351-361.

429*

LAUDRON, P.M., LEYSEN, J.E.: Domperidone, a specific in vitro dopamine antagonists, devoid of in vivo central dopaminergic activity. *Biochem. Pharmacol.* 1979. 28:2161-2165.

430*

BERNIER, J., HUYS, J.: Domperidone in the symptomatic treatment of radiotherapy-induced nausea and vomiting. *Postgrad. Med. J.* 1979. 55:50-54.

431*

ENDO, M.: Clinical evaluation of domperidone in nausea and epigastric discomfort following radiation. *Igaku to Yakugaku.* 1983. 9:984-990.

432*

DUBOIS, A., MUELLER, G., O'CONNELL, J., DURAKOVIC, A.: Abnormal gastric emptying and prevention of radiation-induced vomiting in primates. *Gastroenterology.* 1985. 88:1370A.

433*

CARPENTER, D. O., BRIGGS, D. B., KNOX, A. P., STROMINGER, N. L.: Radiation-induced emesis in the dog: effects of lesions and drugs. *Radiat. Res.* 1986. 108:307-316.

434*

DORVAL, E. D., MUELLER, G. P., ENG, R. R., DURAKOVIC, A., CONKLIN, J. J., DUBOIS, A.: Effect of ionizing radiation on gastric secretion and gastric motility in monkeys. *Gastroenterology.* 1985. 89:374-380.

435*

REYNTJENS, A.: Domperidone as an antiemetic: summary of research reports. *Postgrad. Med. J.* 1979. 55 (Suppl.1):50-54.

436*

ORR, L. E., MCKERNAN, J. F.: Antiemetic effect of Delta-9-Tetrahydrocannabinol in chemotherapy-associated nausea and emesis as compared to placebo and compazine. *J. Clin. Pharmacol.* 1981. 21:765-805.

437*

GRALLA, R. J., TYSON, L. B., BORDIN, L. A., CLARK, R. A., KELSEN, D. P., KRIS, M. G., KALMAN, L. B., GROSHEN, S.: Antiemetic therapy: A review of recent studies and a report of a random assignment trial comparing metoclopramide with delta-9-tetrahydrocannabinol. *Cancer Treat. Rep.* 1984. 68:163-172.

438*

PRIESTMAN, T. J., PRIESTMAN, S. G.: An initial evaluation of nabilone in the control of radiotherapy-induced nausea and vomiting. *Clin. Radiol.* 1984. 35:265-266.

439*

UNGERLEIDER, J. T., ANDRYSIAK, T. A., FAIRBANKS, L. A., TESLER, A. S., PARKER, R. G.: Tethrahydrocannabinol vs. Prochlorperazine. The effects of two antiemetics on patients undergoing radiotherapy. *Radiology*. 1984. 150:598-599.

440*

MENNIE, A. T., DALLEY, V. M., DINEEN, L. C., COLIER, H. O. J.: Treatment of radiation-induced gastrointestinal distress with acetylsalicylate. *Lancet*. 1975.2:942-944.

441*

ANDREWS, P. L. R., DAVIS, C. J., HAWTHORNE, J.: The effect of abdominal visceral nerve lesions and a novel 5HT-M receptor antagonist on cytotoxic and radiation-induced emesis in the ferret. *J. Physiol.(Lond.)*. 1986. 382:47P.

442*

DUNBAR, A. W., McCLELLAND, C. M., SANGER, G. J.: BRL 24924 : A stimulant of gut motility which is also a potent antagonist of the Bezold-Jarisch Reflex in anaesthetised rats. *Br. J. Pharmacol.* 1986. 88:319P.

443*

MINER, W. D., SANGER, G. J., TURNER, D. H.: Comparison of the effect of BRL 24924, metoclopramide and domperidone on cisplatin-induced emesis in the ferret. *Br. J. Pharmacol.* 1986. 88:497-499.

444*

COSTALL, B., DOMENEY, A. M., NAYLOR, R. J., TATTERALL, F. D.: 5-Hydroxytryptamine M-receptor antagonism to prevent cisplatin-induced emesis. *Neuropharmacology*. 1986.25:959-961.

445*

FOZARD, J. R.: 5-HT-3 receptors and cytotoxic drug-induced vomiting. *Trends Pharmacol. Sci.* 1987. 8:44-45.

446*

RASEY, J. S., SPENCE, A. M., KROHN, K. A., BADGER, C., VERA, D. : Specific protection of different normal tissues. *Pharmacol. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:33-43.

447*

TRAVIS, E. L.: Complicating factors in tissue protection. Comunicación presentada en el Symposium Perspectives in Radioprotection. Bethesda, Maryland. 1987.

448*

PARDO, J., MARTIN, M. J., FUENTES, M., MORATINOS, P., MENENDEZ, J. A.: Compuestos radioprotectores. Una aproximación al problema de la radioprotección metabólica. Comunicación presentada en la V Reunión de Investigación del H.M.C. Gomez Ulla. Madrid. 1989.

- 449*
 SHAW, L.M., GLOVER, D., TURRISI, A., BROWN, D.Q., BONNER, H.S., NORFLEET, A.L., WEILER, C., GLICK, J.H., KLIGERMAN, M.M.: Pharmacokinetics of WR2721. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988.39:195-201.
- 450*
 FLOERSHEIM, G.L., FLOERSHEIM, P.: Protection against ionizing radiation and synergism with thiols by zinc aspartate. *Br. J. Radiol.* 1986.59:597-602.
- 451*
 MAISIN, J.R.: Protection against ionizing radiation by combinations of radioprotectors. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988.39:189-193.
- 452*
 MARTIN, M.J.: Alteraciones estructurales y funcionales tras la radiación corporal total y tras la administración de litio a dosis únicas: Estudio experimental en ratas. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. 1990.pp. 114-122.
- 453*
 PARRANT, M.: Effect of LPS on nonspecific resistance to bacterial infections. En: *Beneficial Effects of Endotoxins*. Plenum Press, New York. 1983.pp.179-196.
- 454*
 GALELLI, A., CHEDID, L.: Modulation of myelopoiesis in vivo by synthetic adjuvant-active muramyl peptides induction of colony-stimulating activity and stimulation of stem cell proliferation. *Infect. Immun.* 1983.42:1081-1085.
- 455*
 WUEST, B., WACHSMUTH, E.D.: Stimulatory effect of N-acetyl muramyl dipeptide in vivo: proliferation of bone marrow progenitors cells in mice. *Infect. Immun.* 1982.37:452-462.
- 456*
 BEHLING, U.H.: The radioprotective effect of bacterial endotoxin. En: *Beneficial Effects of Endotoxins*. Plenum Press, New York. 1983.pp.127-148.
- 457*
 ADDISON, P.D., BERRY, L.J.: Passive protection against X-irradiation with serum from Zymosan-primed and endotoxin-injected mice. *J. Retic. Endo. Soc.* 1981.30:301-311.

458*

MANORI, I., KUSHILEVSHY, A., WEINSTEIN, Y.: Analysis of interleukin 1 mediated radioprotection. Clin. Exp. Immunol. 1986. 63:526-532.

459*

ORTALDO, J.R., McCOY, J.L.: Protective effects of interferon in mice previously exposed to lethal irradiation. Radiat. Res. 1980.81:262-266.

460*

HANSON, W.R., AINSWORTH, E.J.: 16-16 Dimethyl prostaglandin E2 induces radioprotection in murine intestinal and hematopoietic stem cells. Radiat. Res. 1984.100:290-297.

461*

BEUTLER, B., CERAMI, A.: Cachectin: more than a tumor necrosis factor. New Engl. J. Med. 1987.316:379-385.

462*

Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. SALVAT eds., Barcelona. 1974. pp.584.

463*

Drug Information 88. Mc EVOY (ed.). American Hospital Formulary Service. 1988. pp.1273-1281.

464*

Drug Facts and Comparisons. J.B. LIPPINCOT Company (eds.), Philadelphia. 1983. pp.978-981.

465*

Martindale: The Extra Pharmacopoeia. The Pharmaceutical Press, London. 1982. pp.1535-1542.

466*

MERCK: An encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals. BUDAVARI, S., O'NEIL, M.J. (eds.). Merck & Co. Inc. Publ., Rahway. 1989.

467*

STEPHEN, M.S.: Lithium in the treatment of leucopenia. Hosp. Formul.. 1985. 123:613-628.

468*

BRADY, K.T.: Weight gain associated with psychotropic drugs. South. Med. J.. 1989. 5:611-617.

469*

KONDAKOVA, N.V., LEVITMAN, M.Kh.: DNA radiation protection with the chlorides of alkaline metals. Radiobiologia. 1977. 17:350-354.

- 470*
GRIVTSEV, B.A., TSIBULSKII, V.V., GOTSULAJK, L.E.: Changes in the lithium content in rabbit organs and tissues under the influence of X-ray irradiation. *Radiobiologia*. 1978.18:748-750.
- 471*
GALLICCHIO, V.S., CHEN, M.G., WATTS, T.D., GAMBA-VITALO, C.: Lithium stimulates the recovery of granulopoiesis following acute radiation injury. *Exp. Hematol.* 1983.11:553-563.
- 472*
ROSE, H., KEHRBERG, G., SAUL, G., PRADEL, I.: Effects of lithium carbonate on leucocyte number after influence of ionizing rays. 2nd. information: Influence of lithium carbonate on leucocyte portions in peripheral blood. *Radiobiol. Radiother.* 1985.26:103-107.
- 473*
ROSE, H., SAUL, G., KEHRBERG, G.: Effect of lithium carbonate on the leucocyte count after exposure to ionizing radiation. 3. Influence of lithium carbonate on the leucocyte count in peripheral blood following fractionated caudal half-body irradiation. *Radiobiol. Radiother.* 1985.26:109-111.
- 474*
MOROZ, B.B., DESHEVOY, Yu.B., TSYBANEV, O.A., KNAYZEVA, G.V., PROTSEROVA, T.K.: Effect of lithium carbonate on the experimental post-irradiation recovery of the blood system. *Gematol. Transfuziol.* 1986.31:25-29.
- 475*
MARCZYNSKA, A., KULPA, J., SKOLYSZEWSKY, J., SOBON, M., MIGDAL, K.: The evaluation of the lithium carbonate effect on concentration of main electrolytes in the plasma of patients with leukopenia during therapeutical irradiation. *Przeglad Lekarski*. 1987.12:805-809.
- 476*
MOROZ, B.B., DESHEVOY, Yu.B., TSYBANEV, O.A., ADYUSHKIN, A.I.: The effect of lithium carbonate on hematopoietic stem cells (CFUs) in acute radiation injury. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* 1988.1:41-43.
- 477*
VACEK, A., SILUKOVA, J., BARTONICKOVA, A.: Radiation resistance in mice increased following chronic application of Li₂CO₃. *Acta Radiol. (Oncol.)*. 1982.21:325-330.
- 478*
MARTIN, M.J., PARDO, J., MORATINOS, P., MENENDEZ, J.L., GUTIERREZ, C.: Respuesta orgánica a la irradiación corporal total: Estudio experimental en ratas. *Medicina Militar*. 1990.46:26-44.

479*

SCHEVING, L.E., TSAI, T.H., SOTHERN, R.B., HRUSHESKY, J.M.: Circadian susceptibility-resistance cycles to radiation and their manipulability by methylene blue. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:397-402.

480*

MARTIN, M.J., PARDO, J., MORATINOS, P., MENENDEZ, J.A., PEREZ, J.L., ROSALES, F.: Efectos morfológicos y funcionales sobre tiroides de la irradiación aguda a dosis medias y de la administración de litio a dosis única. Abs.77. Comunicación presentada a la V Reunión de Investigación del H.M.C. Gomez Ulla. Madrid. 1989. pp.75.

481*

MENENDEZ, J.A., MARTIN, M.J., PARDO, J., MORATINOS, P.: Alteraciones en analítica sanguínea tras radiación y tras administración de litio. Abs.75. Comunicación presentada a la V Reunión de Investigación del H.M.C. Gomez Ulla. Madrid. 1989. pp.73.

482*

MORATINOS, P., MARTIN, M.J., MEMENDEZ, J.A., PARDO, J., ROSALES, F.: Alteraciones analítico-ponderales tras radiación corporal total en ratas wistar. Abs.169. Comunicación presentada al XXVIII Congreso Internacional de Medicina y Farmacia Militares. Madrid. 1990. pp.381.

483*

MILAS, L., MURRAY, D., BROCK, W.A., MEYN, R.E.: Radioprotectors in tumor radiotherapy: Factors and settings determining therapeutic ratio. *Pharmac. Ther.* Pergamon Press, Oxford. 1988. 39:179-197.

484*

KRALJEVICK, P.: Effects of the radiation released by the Chernobyl nuclear accident. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 1987. 38:261-272.

485*

QUAST, U.: Problems of dose modification in total body irradiation. *Strahlenther. Onkol.* 1986. 162:271-275.

486*

BOJTOR, I., HIESCHE, K., SCHNELL, P.O.: Dose from scattered roentgen radiation to a protected part of a mouse phantom. *Acta Radiol.* 1974. 13:32-36.

487*

FARIÑA GONZALEZ, J.: Neumonitis experimental postirradiación en la rata wistar. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. 1975.

488*

HOROWITZ, Y.S., MOSCOVITCH, M., DUBI, A.: Modified general cavity theory applied to the calculation of gamma dose in ⁶⁰Co thermoluminescence dosimetry. *Phys. Med. Biol.* 1983. 28:829-840.

489*

ZAVORONKOV, L.P., SKLOBOVSKAIA, I.E., STRELKOV, R.R., CHIZHOV, A.I.: Modification of the radiation injury of hematopoiesis in rats using the gaseous mixture GHM-10. *Radiobiologia*. 1986. 26:241-243.

490*

STRANDQUIST, M.: Sturdirn uber die kumulative wirkung derrontgentrahlen bei fraktionierung. *Acta Radiol.* 1944. 55:1-300.

491*

VON ESSEN, C.F.: Roentgen Therapy of skin and lip carcinoma. Factors influencing success and failure. *Am. J. Roentgenol.* 1960. 83:556-564.

492*

ELLIS, F.: Dose, time and fractionation: A clinical hypotesis. *Clin. Radiol.* 1969. 20:1-8.

493*

DEEG, H.J., STORB, R., LONGTON, G., GRAHAM, T., SHULMAN, H.M., APELBAUM, F., THOMAS, E.D.: Single dose or fractionated total body irradiation and autologous bone marrow transplantation in dogs: Effects of exposure rate, fraction size, and fractionation interval on acute and delayed toxicity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988.15:647-653.

494*

DALE, R.G.: The application of the linear-quadratic dose-effect equation to fractioned and protracted radiotherapy. *British Journal of Radiology*. 1985.58:515-528.

495*

KELLERER, A.M., ROSSI, H.H.: The theory of dual radiation action. *Curr. Topics Radiat. Resc.* 1972. 8:85-92.

496*

KELLERER, A.M., ROSSI, H.H.: A generalized formation of the theory of dual radiation action. *Radiat. Res.* 1978. 75:471-479.

497*

ALPER, T., GILLIES, N.E., ELKIND, M.M.: The sigmoid survival curve in radiobiology. *Nature*. 1960. 186:1062-1063.

498*

HULTQUIST, P.F.: Numerical Methods for Engineers and Computer Scientists. THE BENJAMIN CUMMINGS PUBLISHING CO., INC.. Menlo Park, California. 1988. pp.128-188.

499*

BAKER, H.J., RUSSELL, J., STEVEN, H.: The laboratory rat. Academic Press Inc., Orlando. 1984.

500*

MAISIN, J.R., MATTELIN, G., FRIDMAN-MANDUZIO, A., VAN DER PARREN, J.: Reduction of short and long term radiation lethality by mixtures of chemical radioprotectors. Radiat. Resc..1968.35:26-48.

501*

HUGON, J., MAISIN, J.R., BORGERS, M.: Modifications ultrastructurales après radioprotecteurs. Int. J. Radiat. Biol..1966. 11:105-116.

502*

HUGON, J., MAISIN, J.R., BORGERS, M.: Ultrastructural aspects of duodenal crypts in X-irradiated mice after chemical protection. Nature.1966.11:105-106.

503*

MAISIN, J.R., GERBER, G,B, LAMBIET-COLLIER, M., MATTELIN, G.: Chemical protection against the long term effects of whole body exposure of mice to ionizing radiation. III. The effects of fractionated exposure to C57BL mice. Radiat. Resc..1978. 82:487-497.

504*

MAISIN, J.R., GERBER, G,B, LAMBIET-COLLIER, M., MATTELIN, G.: Chemical protection against the long term effects of whole body exposure of mice to ionizing radiation. II. Causes of death. Radiat. Resc.. 1978. 74:515-535.

505*

MAISIN, J.R.: Influence of radioprotectors on regeneration of the mucosa of the small intestine in the mouse after X-irradiation. En: Proceedings of Symposium of Effects of Radiation on Cellular Proliferation and Differentiation. International Atomic Energy Agency. Viena. 1968. pp.541-557.

506*

MAISIN, J.R.: Influence of mixture of chemical protectors on the lymphopoietic and hematopoietic systems of mice irradiated with a dose of 2000 R of X-rays. Experientia. 1968.24:230-231.

507*

DUPLAN, J.F., MATTELIN, G., MAISIN, J.R.: Comparative protection of haematopoietic colony-forming cells and lethally X-irradiated mice by mixtures of radioprotectors. *Int. J. Radiat. Biol.* 1976.30:91-94.

508*

SASSEN, A., HASHMI, Q., MATTELIN, G., MAISIN, J.R.: Humoral antibody response of irradiated mice treated with chemical radioprotectors. *Strahlentherapie*. 1971. 142:252-257.

509*

MAISIN, J.R., LEONARD, A., MATTELIN, G.: Effect of a mixture of radioprotectors on the temporary sterile period induced in male mice by exposure to X-irradiation. *Int. J. Radiat. Res.* 1971.19:297-299.

510*

MAISIN, J.R., VAN GORP, V., DE SAINT-GEORGES, L.: The ultrastructure of the lung after exposure to ionizing radiation as seen by transmission and scanning electron microscopy. *Scanning Electron Microsc.* 1982.1:403-412.

511*

MAISIN, J.R., LAMBIET-COLLIER, M., MATTELIN, G.: Radioprotectors and radiotherapy of cancer. En: *Modification of Radiosensitivity of Biological Systems*. International Atomic Energy Agency. Viena. 1976.

512*

SYMPHONY.: Lotus Development Corporation. Versión 2.0.1985, 1988 .

513*

HARVARD GRAPHICS: Software Publishing Corporation. Versión 2.10N.1988.

514*

KAPLAN, E.L., MEYER, P.: Non parametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Statist. Ass.* 1958.53:457-481.

515*

LEE, E.T.: *Statistical methods for survival data analysis*. LIFETIME LEARNING PUBLICATIONS. Belmont, California. 1980.

516*

SAS: SAS Technical Report P-179. Additional SAS/STAT Procedures. Release 6.03, Cary, NC: SAS Institute Inc.. 1988.

517*

SCHEVING, L.E., TSAI, T.H., SOTHERN, R.B., HRUSHESKY, J.M.: Circadian susceptibility-resistance cycles to radiation and their manipulability by methylene blue. *Pharmacol. Ther.* 1988. 39:397-402.

518*

BACQ, Z.M., ALEXANDER, P.: Fundamentos de radiobiología. Ed. Acribia. Zaragoza. 1963. pp. 332-333.

519*

TUOR, U.I., KONDYSAR, M.H., HARDING, R.K.: Emesis, radiation exposure and local cerebral blood flow in the ferret. *Radiat. Resc.* 1988. 114:537-549.

520*

ANNO, G.H., BAUM, S.J., WITHERS, H.R., YOUNG, R.W.: Symptomatology of acute radiation effects in humans after exposure to doses of 0.5-30 Gy. *Health Physics.* 1989. 6:821-838.

521*

ZELNY, V.: The influence of local x-ray irradiation on functional processes in the central nervous system. En: *Progress in radiobiology.* MITCHELL, J.S., HOLMES, B.E., SMITH, C.L. eds. Edimburgh. 1956.

522*

ARBIT, J.: The autonomic nervous system and avoidance conditioning to ionizing radiation. En: *Response of the nervous system to ionizing radiation.* HALEY, T.J., SNIDER, R.S. eds. Boston. 1964.

523*

BEEBE, G.W.: Studies of the mortality of a bomb survivors. *Radiat. Resc.* 1962. 16:253.

524*

HOLSCLAW, D.S., MERRIAM, G.R., MEDVEDOVSKY, C., ROTHSTEIN, H., WORGUL, B.V.: Stationar radiation cataracts: an animal model. *Exp. Eye Resc.* 1989. 48:385-398.

525*

ZEMAN, W., SAMORAJKI, T.: Effects of irradiation on the nervous system. En: *Pathology of irradiation.* BERDJIS, C.C. ed. Baltimore. 1971. pp. 171-185.

526*

VAN DER KOGEL, A.J.: Mechanisms of late radiation injury in the spinal cord. En: *Radiation biology in cancer research.* MEYN, R.E., WITHERS, H.R. eds. New York. 1980. pp. 461-470.

527*

TILLER-BORICH, J.K., FIKE, J.R., PHILLIPS, T.L., DAVIS, R.L.: Pathology of delayed radiation brain damage: an experimental canine model. *Radiat. Resc.* 1987.110:161-172.

528*

FIKE, J.R., CANN, C.E., TUROWSKI, K., HIGGINS, R.J., CHAN, A.S., PHILLIPS, T.L., DAVIS, R.L.: Radiation dose response of normal brain. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988.14:63-70.

529*

CALVO, W., HOPEWELL, J.W., REINHOLD, H.S., YEUNG, T.K.: Radiation induced damage in the choroid plexus of the rat brain: a histological evaluation. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1986.12:47-61.

530*

HALL, E.J.: *Radiobiology for the radiologist.* J.B. LIPPINCOT Co. Philadelphia. 1988. pp:378-384.

531*

COGAN, D.G., FINK, R., DONALDSON, D.D.: X-ray irradiation of orbital glands of the rabbit. *Radiology.* 1955.64:731-737.

532*

STEPHENS, L.C., SCHULTHEISS, T.E., PETERS, L.J., ANG, K.K., GRAY, K.N.: Acuteradiation injury of ocular anexa. *Arch. Ophthalmol.* 1988.106:389-391.

533*

AHMED, I.M., EL-KHATIB, E., LOGUS, J.W., MAN, G.C., JACQUES, J., MAN, S.F.: Alterde pulmonary epithelial permeability in canine radiation lung injury. *J. Appl. Physiol.* 1986.61:971-981.

534*

MOLLS, M., BUDACH, V., BAMBERG, G.M.: Total body irradiation: The lung as a critical organ. *Strahlenther Onkol.* 1986.162:226-232.

535*

PENNEY, D., VAN HOUTTE, P., RUBIN, P., ROSENKRANS, W., SIEMAN, D., COOPER, R.: Interplay of pulmonary fibrosis versus pneumonitis: Radiation and Bleomycin effects in mouse lung. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1985. Sept:114.

536*

KWOCK, L., DAVENPORT, C., CLARK, R.L., ZAREMBRA, J., LINGLE, B., CHANEY, E.L., FRIEDMAN, M.: The effects of ionizing radiation on the pulmonary vasculature of intact rats and isolated pulmonary endothelium. *Radiat. Research.* 1987.11:276-291.

537*

FARIÑA, J.: Neumonitis intersticial postirradiación en la rata wistar. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. 1975.

538*

GREGOIRE, V., GUEULETTE, J., DE COSTER, B.M., OCTAVE-PRINGOT, M., WAMBERSIE, A.: Early repair kinetics of intestine and lung in mice, after fast neutron and foton irradiation. Strahlenther Onkol. 1989. 165:272-275.

539*

WARD, W.F., KIM, Y.T., MOLTENI, A., SOLLIDAY, N.H.: Radiation induced pulmonary endothelial dysfunction in rats: modification by an inhibitor of angiotensin converting enzyme. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1988. 15:135-140.

540*

LAW, M.P.: Vascular permeability and late radiation fibrosis in mouse lung. Radiat. Resc. 1985. 103:60-76.

541*

COGGLE, J.E., LAMBERT, B.E., MOORES, S.R.: Radiation effects in the lung. Environ Health Perspect. 1986. 70:261-291.

542*

MOSS, W.T., BRAND, W.N.: Radioterapia clínica. Salvat ed. Barcelona. 1973. pp.221-222.

543*

KARPOVA, V.N., KALMYNOVA, Z.I.: Changes in hemodynamics and ECG in dogs following whole-body external gamma-irradiation. Med. Radiol. 1986. 31:33-37.

544*

UL'IANENKO, L.N., ROTT, G.M., ROZHINSKAIA, I.V., IPATOVA, A.G., BURTSEU, A.I.: Release of myoglobin in the blood of irradiated swinw showing decreased activity of various enzymes markers of muscle tissue injury. Radiobiologiia. 1987. 27:625-629.

545*

RICE, J.C., IZUTSU, K.T., TRUELOVE, E.L., MENARD, T.W., ANDERSON, M.W., MORTON, T.H., SIEGEL, I.A.: Rat parotid pathophysiology following Cs-137 irradiation. Radiat Resc. 1982. 90:330-338.

546*

SCHNEYER, C.A.: Secretori mechanisms of salivary glands. Academic Press. New York. 1967. pp.207.

547*

VAN DEN BRENK, H.A.S., STONE, M.G.: Effects of X-irradiation on salivary gland growth in the rat. *Int. J. Radiat. Biol.* 1972. 21:247-256.

548*

BUELL, M.G., HARDING, R.K.: Proinflammatory effects of local abdominal irradiation on rat gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.* 1989. 34:390-399.

549*

BREITER, N., TROTT, K.R., SASSY, T.: Effect of X-irradiation on the stomach of the rat. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1989. 17:779-784.

550*

MAN, W.K., MICHALOWSKI, A., LI, S.K., BARR, J., BURGIN, J., BARON, J.H., SPENCER, J.: Gastrointestinal histamine after thoracic irradiation in the mouse. *Br. J. Exp. Pathol.* 1986. 67:219-227.

551*

MONTAGNA, W., WILSON, J.W.: Cytologic study of intestinal epithelium of mouse after total body X-irradiation. *J. Nat. Cancer Inst.* 1955. 15:1703-1736.

552*

THAMES, H.D., WITHERS, H.R., MASON, K.A., REID, B.O.: Dose-survival characteristics of mouse jejunal crypt cells. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 1981. 7:1591-1597.

553*

KAMEL, H.M., HUME, S.P., CARR, K.E., MARIGOLD, J.C., MICHALOWSKI, A.: Development of villous damage in mouse small intestine after local hyperthermia or irradiation. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 1988. 20:185-193.

554*

MOSS, W.T., BRAND, W.N.: *Radioterapia clínica.* Salvat ed. Barcelona. 1973. pp.297.

555*

HOPEWELL, J.W.: The importance of vascular damage in the development of late radiation effects in normal tissues. *En: Radiation biology in cancer research.* MEYN, R.E., WITHERS, H.R., eds. New York. 1980. pp.449-459.

556*

SEIFULLIN, F.K.H., ATABEKOV, T.A., ISKHANBEKOV, B.I., SALIKHODZHAEV, Z., RAKHIMOV, T.T.: Effect of coamide on the morpho-functional state of the pancreatic islands in irradiated animals. *Radiobiologia.* 1986. 26:238-241.

- 557*
FAJARDO,L.F.,BERTHRONG,M.: Vascular lesions following radiation. Pathol. Annu.1988.23:297-330.
- 558*
STEADMAN,L.T.,GRIMALDI,A.J.: Univ. Rochester Atomic Energy Project.UR-205.1952.
- 559*
DU TOIT,D.F.,HEYDENRYCH,J.J.,SMITH,B.,ZUURMOND,T.,LOWN,G.,LAKER,L.,ELS,D.,ET AL.: The effect of ionizing radiation on the primate pancreas; an endocrine and morphologic study. J. Surg. Oncol.1987.34:43-52.
- 560*
AHMADU,F.,GILLETTE,E.L.,WITHROW,S.J.,HUSTED,P.W.,NELSON,A.W.,WHITEMAN,C.E.: Pathologic response of the pancreas and duodenum to experimental antrooperative irradiation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.1988.14:1197-1204.
- 561*
LACASSAGNE,A.,GRICOUROFF,G.: Action des radiations ionisantes sur l'organisme.Maison et cie. ed.Paris.1956.
- 562*
BACQ,Z.M.,ALEXANDER,P.: Fundamentos de radiobiología. Ed.Acribia. Zaragoza.1963.pp.476.
- 563*
MOSS,W.T.,BRAND,W.N.: Radioterapia clínica. Salvat ed. Barcelona. 1973. pp.409.
- 564*
ASSHER,A.W.: The delayed effects of renal irradiation. Clin. Radiol.1964.15:320-325.
- 565*
BOTTCHEER,H.D.: Changes in renal parenchyma induced by ionizing radiation and chemotherapy in animal experiments. Strahlenter Onkol.1986.162:503-513.
- 566*
HOOPES,P.J.,GILLETTE,E.L.,BENJAMIN,S.A.: The pathogenesis of radiation nephropathy in the dog. Radiat. Resc. 1985. 104:406-419.
- 567*
MADRAZO,A.,SCHWARZ,G.,CHURG,J.: Radiation nephritis:A rewiew. J. Urol.1975.114:822-827.

568*

CALDWELL,W.L.: Time-dose factors in fatal post-irradiation nephritis.En: Cell survival after low doses of radiation. ALPER,T.ed.Bristol.1975.pp.328-332.

569*

HUANG,K.,ALMAND,J.R.,HARGAN,L.A.: The effect of total body x-irradiation on hepatic and renal function in albino rats. Radiation Resc.1954.1:426-436.

570*

JONGEJAN,H.T.,VAN DER KOGEL,A.J.,PROVOOST,A.P.,MOLENAAR,J.C.: Hipertension after bilateral kidney irradiation in young and adult rats. Radiat. Resc.1987.111:474-487.

571*

ROBBINS,M.E.,CAMPLING,D.,RELVANS,M.,GOLDDING,S.J.,HOPEWELL,J.V.: Nephropathy in the nature pig after the irradiation of a simple kidney:a comparison with the immature pig. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1989.16:1519-1528.

572*

WALLACE,D.M.: Clinical assessment of bladder tumour.En:Tumours of the bladder.WALLACE,D.M.ed.London.1959.

573*

HUEPER,W.C.,FISHER,V.C.,CARVAJAL-FORERO,J.,THOMPSON,M.R.: The pathology of experimental roentgen-cystitis in dogs. J. Urol. 1942.47:156-157.

574*

MURRAY,R.G.: The spleen. Histopatology of irradiation. Mc Graw-Hill Book Company.ed.New York.1948.

575*

MACKOVA,N.,MISOROVA,E.: Evaluation of leukocyte number by using an automated blood cell counter and a traditional hematological method in animals irradiated with gamma rays. Folia Haematol. 1987.114:810-816.

576*

KIRILLOVA,E.N.,PETROV,R.V.: Functional activity of cellular systems of inmunity a long time after sublethal irradiation. Radiobiologiiia.1986.26:488-491.

577*

HAYASHI,K.,KAGAWA,K.,AWAI,M.,IRINO,S.: The role of marrow architecture and stromal cells in the recovery process of aplastic marrow of lethally irradiated rats parabiosed with healty litter mates. Scan. Electron. Microsc.1986.4:1489-1499.

573*

SEDLAKOVA,A.,TIMBO,J.: Contribution to the role of lipids in the bone marrow of irradiated rats. Radiobiol. Radiother. 1986.27:777-782.

579*

BLOOM,W.: Some hematologic effects of irradiation. Blood. 1948. 3:586-592.

580*

KEHRBERG,G.: Study of the prophylactic effect of lithium in radiogenic leucocytopenia. En: Lithium in Biology and Medicine: New applications and developments. SCHRAUZER,G.N.,KLIPPEL,K. eds.VCH.Weinheim.1991.pp.47-63.

581*

BEHRENS,C.F.,KING,E.R.,CARPENTER,J.W.: Medicina nuclear. Salvat ed. Barcelona.1972.

582*

BALCELLS,A.: La clínica y el laboratorio. Marín S.A. ed. Barcelona.1979.

583*

KAHN,J.B.,FURTH,J.: Pathogenesis of post-irradiation anemia. Blood.1952.7:404-417.

584*

PEREZ MODREGO,S.,PLATA BEDMAR,A.: Radiaciones ionizantes. Artes Gráficas Langa y Cia. eds.Madrid.1965.pp:393-394.

585*

GUIOT,H.F.,TORDOIR,E.F.,HELMING,A.V.: Prolonged granulocytopenia due to selective antimicrobial modulation of the intestinal flora of irradiated rats:the impact on recovery from infection. Infection.1988.16:189-193.

586*

COUNTRYMON,P.I.,HEDDLE,J.: The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. Mutation Resc.1976.41:321-332.

587*

MOLTEN,I.: Acute response of the thyroid to external radiation.Acta Path. Microbiol. Scand. 1983.283:1-111.

588*

GOODMAN,A.,GOODMAN,L.S.,GILMAN,A.: Las bases farmacológicas de la terapéutica. Panamericana ed.Madrid.1985.pp.141-436.

589*

MIZINA, T. I., DOKSHINA, G. A., KARLOVA, L. N.: Functional status of the rat insular apparatus and adrenal cortex at early periods after irradiation. *Radiobiologiya*. 1986. 26: 708-710.

590*

KOLOMIITSEVA, I. K., NOVOSELOVA, E. G., KULAGINA, T. P., POTEKHINA, N. I., KAZNACHEEN, I. S.: Lipid metabolism in rat tissues after irradiation. *Radiobiologiya*. 1986. 26: 313-317.

591*

STEPANOV, S. A., IUSUPOVA, I. U., GROZDOV, S. P.: Changes in lipid metabolism in rats with radiation sickness and a pronounced intestinal syndrome following local irradiation of the abdominal region. Fatty acid composition of the blood and tissue phospholipids. *Radiobiologiya*. 1989. 29: 60-64.

592*

KONNOVA, L. A., TESLENKO, V. M., KOMAR, V. E.: Metabolic indices of proteolysis of the blood serum in dogs in the early period following uniform whole-body gamma irradiation. *Radiobiologiya*. 1989. 29: 221-225.

593*

ELKINA, N. I., MAKSUTOVA, A. I.: Biochemical changes in rat tissues as affected by the combined action of external gamma-irradiation and ²³⁹Pu in different doses. *Radiobiologiya*. 1986. 26: 677-682.

ABRIR TOMO II

