

LA RESPUESTA ADAPTATIVA INDUCIDA POR RADIACIÓN Y SUS POSIBLES CAUSAS

María Teresa Mendiola Cruz*

RESUMEN

La respuesta adaptativa es un fenómeno que puede ser inducido por la radiación ionizante, el cual consiste en que la exposición a dosis bajas de este agente, induce mecanismos mediante los cuales las células están mejor preparadas para afrontar exposiciones posteriores a dosis más altas del mismo agente o de otro que dañe al ADN. Esta respuesta se induce bajo determinadas condiciones experimentales y depende en gran parte de la constitución genética del organismo en estudio. Su inducción se ha explicado en función de tres causas principales: inducción de mecanismos de reparación, estimulación de sistemas detoxificantes o apoptosis. Existen evidencias que apoyan a estas alternativas, aunque la regulación aún no es del todo comprendida. Es probable que no sólo un mecanismo esté involucrado, sino que sea el resultado de una serie de eventos relacionados. La motivación para continuar con este tipo de estudios se basa, tanto en el deseo de comprender los mecanismos básicos que participan en su inducción y regulación como para conocer si este fenómeno afecta la estimación del riesgo de exposición a dosis bajas de radiación, en la incidencia de mutación y cáncer en las poblaciones humanas.

Palabras clave: *respuesta adaptativa, radiación ionizante, células de mamífero.*

ABSTRACT

The adaptive response is a phenomenon that can be induced by low doses of ionizing radiation, whereby cells become better prepared to confront subsequent exposures to higher doses of the same agent or another that produces DNA damage. This response is induced under certain experimental conditions and depends on the genetic constitution of the organism studied. Its induction has been explained by three main causes: induction of repair mechanisms; stimulation of detoxificant systems, or apoptosis. Evidence exists supporting each of these alternatives, although regulation is not yet understood. Probably not solely one mechanism is involved in the induction of the adaptive response; it must be the result of related events. The reason to continue this type of study is based both on the desire to understand the basic mechanisms behind induction and regulation, and interest in knowing whether this phenomenon affects the estimation of risk to mutation and cancer by exposure to low level radiation in the human population.

Key Words: *Adaptive response, Ionizing radiation, Mammalian cells.*

ARTÍCULO RECIBIDO EL 19 DE OCTUBRE DEL 2000 Y ACEPTADO EL 06 DE DICIEMBRE DEL 2000.

ANTECEDENTES

Cuando la radiación interactúa con las células desencadena una serie de reacciones que involucran cambios químicos en todas las moléculas, teniendo especial importancia las que afectan al ADN, ARN, proteínas, enzimas y al agua. Dicha interacción produce diferentes efectos citotóxicos, mutagénicos y carcinogénicos. El ADN es una de las principales moléculas blanco más vulnerables a este agente físico, y las principales lesiones producidas son las rupturas de cadena sencilla y doble, los enlaces cruzados ADN-ADN y ADN-proteínas, los sitios lábiles al álcali y los daños en las bases¹⁻³ (Fig. 1). La mayoría de estas lesiones pueden ser reparadas mediante

mecanismos celulares específicos y otras se pueden evitar mediante la presencia de algún agente con actividad radioprotectora^{5,6}. Sin embargo, por arriba de cierto nivel de exposición las células mueren debido a un incremento en el número de lesiones no reparadas.

Bajo determinadas condiciones experimentales la exposición a dosis bajas de radiación, puede conferir determinada resistencia a las células, frente al efecto genotóxico de exposiciones posteriores con dosis más altas del mismo agente o de otro que igualmente dañe al ADN; a este fenómeno se le conoce como respuesta adaptativa. La primera evidencia de esta respuesta se obtuvo con agentes alquilantes en *E. coli*, y se reportó que la resistencia frente a dosis altas del mismo agente se debía a la

* Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.
E-mail: mtmc@nuclear.inin.mx

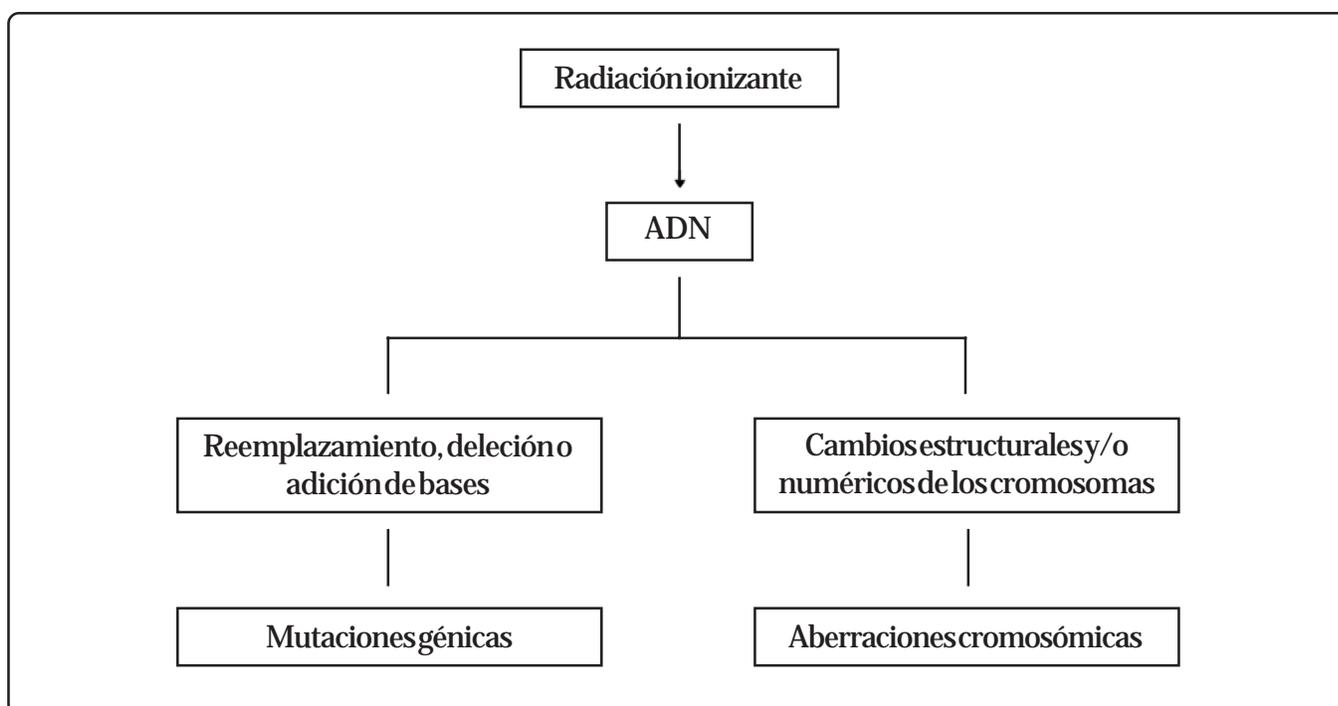


Figura 1. Efectos genéticos de la exposición a radiación ionizante. Cuando la radiación incide sobre el ADN se generan varios tipos de lesiones como son las rupturas de cadena sencilla y doble, rompimientos en los puentes de hidrógeno, cambios en el esqueleto azúcar-fosfato, formación de enlaces cruzados, daño en las bases nitrogenadas, modificación en la secuencia de las mismas, entre otras. Todas estas alteraciones impiden que el ADN funcione adecuadamente, tanto en la síntesis como en la transcripción y, además, traen como consecuencia la producción de aberraciones cromosómicas y/o mutaciones génicas.

inducción de un mecanismo de reparación libre de error^{7,8}. Más tarde también se detectó la existencia de una respuesta similar en varios tipos celulares de mamíferos^{9,10}.

La respuesta adaptativa inducida por radiación ionizante se comenzó a estudiar en linfocitos humanos que habían incorporado timidina tritiada en su ADN^{11,12}. Estas células con el isótopo radiactivo incorporado se estuvieron exponiendo crónicamente a dosis bajas de radiación conforme se desintegraba el tritio. Al ser subsecuentemente expuestas a dosis de 1.5 Gy (Grey=unidad de dosis de radiación, energía absorbida por unidad de masa, equivale a 100 rads) de rayos X, la cantidad de aberraciones cromosómicas que se indujo fue 50% menor que en las células que no habían incorporado el isótopo. Posteriormente, se realizaron experimentos aplicando tratamientos agudos con dosis bajas de radiación y se concluyó que cuando las células se exponen a dosis tan bajas como 0.01 Gy de rayos X, el daño citogenético inducido en linfocitos humanos por la exposición posterior a 1.5 Gy no está elevado¹³. Otros trabajos realizados también en linfocitos humanos estimulados *in vitro*, confirmaron la inducción de respuesta adaptativa, tanto con la pre-exposición a timidina marcada con diferentes radioisótopos como ³H, ¹⁴C y ³²P como con una dosis de 0.05 Gy de rayos X. La frecuencia de aberraciones cromosómicas fue menor en las células que recibieron la dosis baja (de adaptación) previa a la dosis alta (de reto), comparada en términos del efecto aditivo que podrían tener ambas dosis por separado. Sin embargo, esta reducción en el número de

aberraciones cromosómicas, varió entre las muestras de los diferentes donadores¹⁴.

Desde entonces se han realizado una gran cantidad de experimentos al respecto, utilizando diversos protocolos en diferentes tipos celulares, tales como: células V 79 de criceto chino¹⁵, médula ósea de ratón¹⁶, células de bazo¹⁷, linfocitos humanos, de bovino y de conejo¹⁸⁻²², fibroblastos humanos²³ y células germinales de ratón²⁴⁻²⁶. También se han empleado células vegetales para estudiar este fenómeno²⁷ y algunas líneas de células cancerosas, tales como hepatomas²⁸, melanomas²⁹, adenocarcinomas³⁰, leucemia mieloide y linfomas de ratón^{31,32}.

PRINCIPALES INDICADORES DE DAÑO CITOGENÉTICO RELACIONADOS CON LA RESPUESTA ADAPTATIVA

1. Aberraciones cromosómicas (AC)

Las AC son cambios estructurales y/o numéricos en los cromosomas. Se ha observado que cuando los linfocitos humanos son expuestos a una fuente de ⁶⁰Co en un rango de 0.01 a 0.2 Gy, se induce respuesta adaptativa, ya que al ser posteriormente expuestos a 1.0 Gy como dosis de reto, se obtuvo un 54% menos de AC en comparación con las células que no se expusieron a la dosis de adaptación³³. Datos similares ya habían sido reportados por Fan y col. en 1990³⁴, quienes sugirieron la presencia de un mecanismo de reparación inducible por dosis bajas de radiación.

Se ha estudiado la inducción de respuesta adaptativa con radiación gamma en linfocitos humanos trisómicos (47, XXo

XY, +21). La frecuencia de aberraciones cromosómicas inducida por dosis altas, fue considerablemente menor en los linfocitos de donadores normales que fueron pre-expuestos a dosis bajas de radiación X en comparación con los que no recibieron el pre-tratamiento, mientras que en los linfocitos obtenidos de donadores con trisomía 21 no se detectaron diferencias³⁵. Para analizar el control genético sobre la inducción de la respuesta adaptativa, se han comparado las frecuencias de aberraciones cromosómicas en pares de gemelos monocigóticos, dicigóticos e individuos no relacionados. La variabilidad de la respuesta fue menor entre los gemelos monocigóticos que entre los dicigóticos y los no relacionados. Se ha considerado que la heterogeneidad de la respuesta está determinada en gran parte genéticamente³⁶.

2. Micronúcleos (MN)

Los MN son fragmentos de cromosomas que no migran correctamente durante la mitosis. La frecuencia de micronúcleos que se presentó en ratones expuestos a dosis bajas antes de la dosis de reto de radiación gamma, fue significativamente menor que el valor obtenido en los organismos que no recibieron la dosis de adaptación³⁷. Resultados similares se han obtenido con linfocitos de individuos sanos de cualquier sexo y edad en un rango de 25 a 55 años³⁸. Para establecer si la exposición ocupacional induce respuesta adaptativa, se ha analizado la frecuencia de MN inducida por 1.0 y 2.0 Gy de radiación gamma en los linfocitos obtenidos del personal relacionado con el manejo de fuentes radiactivas en medicina. A pesar de que la frecuencia basal de MN en los linfocitos de los trabajadores es mayor que en los individuos testigo, la exposición *in vitro* a la dosis de reto, produjo frecuencias de MN significativamente menores en los linfocitos del personal expuesto a radiación. Estos datos confirman la inducción de respuesta adaptativa por exposición crónica a dosis bajas, la cual puede deberse a una menor cantidad de daño inicial y/o a la inducción de mecanismos de reparación del ADN³⁹.

3. Mutaciones

Una mutación es una variación en el mensaje del ADN. Una cadena nueva de ADN en la que haya ocurrido una mutación puede diferir de la cadena vieja solamente en un nucleótido, pero aún así este pequeño cambio en el mensaje biológico tiene efectos en la célula. En espermatozonias y espermatozitos de ratones pre-tratados con 0.05 Gy de rayos X, la frecuencia de mutaciones letales dominantes no se incrementó como se esperaba al ser subsecuentemente expuestos a 2.0 Gy²⁴. Así mismo, se ha observado que cuando las células SR-1, derivadas de carcinoma mamario de ratón y las células T de leucemia humana, se exponen a 0.01 Gy de radiación gamma previo a la exposición con 3.0 Gy, la frecuencia de mutaciones en el locus *hprt se* reduce significativamente. El análisis por "Southern blot" mostró que el 47% de las mutaciones inducidas por la dosis de reto sin adaptación fueron deleciones y rearrreglos. El porcentaje de este tipo de mutaciones disminuyó a 28% en las células adaptadas, el cual resultó cercano al nivel

basal de 22%. Esta respuesta se atribuyó a la inducción de un mecanismo de reparación de doble cadena del ADN^{40,41}.

4. Otros

La supervivencia celular y la síntesis de ADN son otros parámetros que también se han considerado para estudiar la respuesta adaptativa. En las células V79 de criceto chino, la pre-exposición a 0.05 Gy aumenta la supervivencia celular frente a la exposición a 4.0 Gy. Así mismo, la síntesis de ADN se reduce en menor proporción en las células expuestas a la dosis de adaptación. La inducción de esta respuesta se asoció a la transducción de señales mediante la proteincinasa C, ya que un inhibidor de esta enzima bloqueó la respuesta⁴². Resultados similares se han reportado en células de melanoma humano, en las que además se detectaron cambios significativos en la biosíntesis de proteínas, tanto nucleares como de membrana²⁹. Por el contrario, en otras células neoplásicas de diferente origen, principalmente de linfomas humanos, no se ha observado inducción de respuesta adaptativa, bajo condiciones experimentales semejantes a las del trabajo anterior. La respuesta adaptativa sólo se indujo en las células normales, lo cual indica que en las células cancerosas pueden estar alterados los mecanismos que participan en la inducción de la adaptación³².

Una característica común de los parámetros mencionados que se han utilizado para evaluar la respuesta adaptativa, es que para que se puedan manifestar se requiere que transcurra por lo menos un ciclo celular, lo cual impide el estudio de los procesos que se desencadenan inmediatamente después de la dosis de adaptación.

ALGUNOS DATOS CONTRADICTORIOS

La mayoría de los trabajos enfocados hacia el estudio de la respuesta adaptativa, han reportado resultados que apoyan la existencia de este fenómeno. Sin embargo, existen algunos datos negativos en linfocitos humanos expuestos a rayos X, bajo diferentes condiciones experimentales⁴³⁻⁴⁵. Así mismo, en linfocitos obtenidos de niños expuestos crónicamente a emisiones de ¹³⁷Cs, como consecuencia del accidente de Chernobyl, no se observó disminución en la producción de aberraciones cromosómicas cuando se expusieron a dosis de reto del mismo agente⁴⁶. No obstante, en muestras tomadas de los mismos donadores del experimento anterior, se observó una frecuencia baja de aberraciones cromosómicas después del tratamiento *in vitro* con bleomicina, que es un agente químico radiomimético. Esto sólo se observó en los niños que presentaban contaminación interna por la presencia de ¹³⁷Cs en la sangre al momento de tomar la muestra, lo cual indica que la exposición continua induce la respuesta adaptativa⁴⁷. Las diferencias obtenidas se explicaron con base en los distintos mecanismos de inducción de daño y reparación del ADN que pudieran operar para cada agente. En otro trabajo realizado en ratones Balb/c *in vivo*, se observó que el pretratamiento con una dosis baja de radiación ionizante, no protege contra la inducción de micronúcleos por dosis de reto y no hubo cambio en la cinética de producción de dicho parámetro⁴⁸.

Otros autores han reportado que en linfocitos de sangre periférica humana, expuestos a la dosis de adaptación en G_1 temprana o en S y a la de reto en G_1 . So G_2 , no se encontró respuesta adaptativa, evaluada por el número de aberraciones cromosómicas. Incluso, en las muestras que se expusieron a la dosis de reto en G_2 , se detectó un efecto sinérgico entre ambas exposiciones⁴⁹. Datos similares fueron obtenidos por Andersson y Chiangmai (1992)⁵⁰ en células de criceto chino expuestas a rayos X o neutrones. Se propuso que dichas células en cultivo han perdido la capacidad de inducir las enzimas responsables de la respuesta adaptativa.

INDUCCIÓN DE LA RESPUESTA ADAPTATIVA EN RELACIÓN CON LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CICLO CELULAR

En algunos experimentos se ha demostrado que la inducción de la respuesta adaptativa, depende en parte de la etapa del ciclo en la que se encuentran las células al momento de la exposición a la dosis de adaptación y a la de reto, de la dosis total recibida y de la razón de dosis de irradiación¹³. Se ha observado que la respuesta adaptativa se puede inducir al suministrar la dosis baja de rayos X durante la fase S del ciclo celular. Para determinar si dicha respuesta se puede inducir en otras etapas del ciclo, se han irradiado linfocitos humanos con 0.01 o 0.05 Gy antes de la estimulación con fitohemaglutinina, es decir, en G_0 , o con 0.01 Gy en diferentes tiempos después de la estimulación en G_1 y con 1.5 Gy como dosis de reto en G_2 . Aunque los linfocitos adaptados en G_0 no mostraron respuesta, las células irradiadas en G_1 4 hrs después de la estimulación, respondieron positivamente frente a la dosis de reto. Se ha determinado que la respuesta puede persistir aún después de tres ciclos de división celular¹³. En relación a la posibilidad de inducir la respuesta en linfocitos no estimulados, Tuschl y col. (1983)⁵¹ observaron un incremento en la síntesis no programada de ADN y una disminución en la frecuencia de intercambios en las cromátidas hermanas en linfocitos tratados con radiación ultravioleta (UV), obtenidos de trabajadores expuestos a dosis bajas de radiación. Posteriormente, se reportó inducción de respuesta adaptativa en linfocitos adaptados en G_0 , analizando la supervivencia celular, la frecuencia de mutaciones⁵² y la de aberraciones cromosómicas¹⁶. También se ha reportado que cuando los linfocitos se exponen a dosis bajas de rayos X o peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en G_0 , presentan una frecuencia de micronúcleos menor al exponerse a la dosis de reto de rayos X⁵³. Otros autores han experimentado con diferentes esquemas de irradiación en varias etapas del ciclo celular, para determinar cuáles etapas son críticas en la inducción de la respuesta. Linfocitos de donadores sanos se expusieron a la dosis de adaptación en G_0 , G_1 ó G_1/S y subsecuentemente a la de reto en G_1 , G_1/S , So G_2 . Los datos indicaron que la acción de la dosis de adaptación se manifestó sólo con el esquema de exposición a la dosis de reto en S o G_2 , siendo G_2 la etapa en la que se obtienen mejores resultados, independientemente de la etapa en la que se haya suministrado la dosis de adaptación⁵⁴. Shadley y col., (1987)¹³ ya habían determinado que G_2 era la etapa más indicada para aplicar la dosis de reto, aunque a diferencia del trabajo de Ryabchenko y col. (1998)⁵⁴, establecieron que las células adaptadas en G_1 mostraron una respuesta mejor. Como se puede apreciar, los resultados son

contradictorios en cuanto a las etapas del ciclo celular en la que hay una mayor inducción de la respuesta adaptativa. Se ha argumentado que la falta de respuesta aplicando la dosis de adaptación en G_0 , en comparación con la obtenida en otras etapas del ciclo, se debe a que los linfocitos en división tienen mayor capacidad de reparación que los que están en reposo¹³.

RESPUESTA ADAPTATIVA "CRUZADA"

Esta característica se presenta cuando la exposición a dosis bajas de algún agente genotóxico físico o químico induce respuesta adaptativa frente a otro agente diferente. Tal caso se ha observado en linfocitos humanos que han sido expuestos a radiación ionizante y esto les confiere resistencia frente al tratamiento con la bleomicina o con la mitomicina C (MMC)⁵⁵. En células SR1 de ratón expuestas a dosis bajas de radiación gamma, la inducción de mutaciones en el locus *hprt* por la exposición posterior a bleomicina, fue menor que en las células no adaptadas con radiación. La respuesta adaptativa observada fue similar a la que se presentó con radiación como agente de reto, lo cual se atribuyó a algún mecanismo de reparación de rupturas dobles en el ADN⁴⁰. También *in vivo* se han obtenido algunos resultados del efecto "cruzado" entre radiación y bleomicina. En linfocitos de niños expuestos a radiación ionizante debido al accidente de Chernobyl, tratados posteriormente en cultivo con bleomicina, se reportó que la frecuencia de aberraciones cromosómicas fue menor que en los linfocitos de los niños que no estuvieron presentes en el accidente⁴⁷. Dicha respuesta sólo se observó en las muestras de los niños que todavía presentaban contaminación interna, por la presencia de ¹³⁷Cs en sangre⁵⁶. Este mismo efecto se ha observado en individuos ocupacionalmente expuestos a radiación ionizante⁵⁷. Igualmente, el pretratamiento con bajas concentraciones de bleomicina induce la respuesta adaptativa frente a subsecuentes tratamientos con rayos X^{58,59}.

También se ha observado que la radiación ionizante puede inducir respuesta adaptativa, frente a otros agentes como la mitomicina C, que produce principalmente monoadductos y enlaces cruzados. En linfocitos humanos, expuestos a dosis de 0.01 Gy de rayos X de manera crónica o aguda, se redujo en un 10% la frecuencia de ICH inducida subsecuentemente por MMC⁶⁰. Más adelante, se detectó que en células V79 de criceto chino, expuestas continuamente a dosis bajas de radiación gamma, se presentaron frecuencias menores de aberraciones cromosómicas y de ICH cuando se expusieron posteriormente a MMC⁶¹. Resultados similares ya habían sido obtenidos en linfocitos de ratón y de humano; con estos datos se sugirió que la irradiación crónica causa un incremento en la capacidad de las células para reparar las lesiones inducidas en el ADN por MMC^{17,62}.

También, se ha detectado respuesta cruzada entre la radiación ionizante y la radiación UV B (313 nm), mas no con etil metanosulfonato ni con cisplatino como agentes de reto¹⁵. En otro trabajo también realizado con ratones *in vivo*, se irradiaron las células de la médula ósea del fémur de una extremidad y

posteriormente se trataron los ratones con MMC para comparar la inducción de ICH entre ambas extremidades. La diferencia en la frecuencia de ICH inducida por MMC entre la extremidad irradiada y la no irradiada fue de aproximadamente 30%⁶³, de lo cual se infirió que el pretratamiento con la radiación permitió que las células respondieran más eficientemente a la exposición a MMC.

Con dosis bajas de H₂O₂ se puede inducir la respuesta adaptativa cruzada en linfocitos, lo cual se manifiesta como una frecuencia menor de micronúcleos inducida por radiación ionizante. Con estos resultados se propuso que las rupturas de cadena sencilla son las lesiones principales que disparan la respuesta, ya que ambos agentes las producen a través de radicales hidroxilo⁶⁴.

POSIBLES CAUSAS DE LA RESPUESTA ADAPTATIVA

La respuesta adaptativa inducida por radiación se ha explicado fundamentalmente en función de las siguientes causas:

1. Inducción de mecanismos de reparación

La primera evidencia directa de la inducción de los sistemas de reparación viene de los resultados obtenidos por Wiencke y col. en 1986¹², quienes encontraron que la polimerasa poli (ADP-ribosa), enzima involucrada en los procesos de reparación, era necesaria para disparar la respuesta adaptativa con timidina tritiada en linfocitos humanos. La inhibición de dicha enzima mediante la 3-aminobenzamida (3-AB), bloquea completamente la respuesta adaptativa, medida en función de la frecuencia de micronúcleos en células V79 de criceto Chino y por la frecuencia de mutaciones en el locus S1 de células híbridas, lo cual favorece la hipótesis de inducción de la reparación como mecanismo responsable de la adaptación^{15,65}. Se ha comprobado que la respuesta adaptativa que se induce por radiación gamma en líneas de células humanas cancerosas, como hepatomas y linfomas, se puede eliminar cuando se agrega la 3-AB después de la dosis de reto, en cualquiera de los protocolos experimentados. Estos resultados apoyan la propuesta de que la respuesta es el resultado de la inducción de cierto mecanismo de reparación^{28,66}.

Sin embargo, la hiposensibilidad a la bleomicina detectada en linfocitos humanos, expuestos *in vivo* a radiación ionizante por el accidente de Chernobyl, persistió aun en presencia de ciertos inhibidores de la reparación del ADN como 3-AB, afidicolin o 3-dideoxitimidina. Con estos resultados se propuso que la resistencia a bleomicina en niños contaminados, no está relacionada con la actividad de las enzimas involucradas en los mecanismos de reparación⁴⁷.

Dado que la respuesta adaptativa puede ser impedida por la presencia de actinomicina D o cicloheximida, administradas entre el período de exposición a la dosis de adaptación y la de reto, se ha asumido que la síntesis *de novo* de transcritos y proteínas es requerida para la expresión de esta respuesta^{19,67}. La presencia de proteínas sintetizadas durante las primeras horas después de la dosis de adaptación, se ha detectado en células V79 de criceto⁶⁷, en linfocitos humanos⁶⁸ y en células UI-Me1

de melanoma humano⁶⁹. En este último sistema, se ha identificado que se incrementa el nivel de ciertos transcritos específicos después de la exposición a dosis bajas, lo cual permite la supervivencia a través de la reparación. En células de bazo de ratón, se ha detectado que los inhibidores de la síntesis de proteínas o de ARN, como la cicloheximida o el 5,6-dicloro-1-beta-d-ribofuranosilbenzimidazol, administrados entre la dosis de adaptación y la de reto, evitan el incremento en la supervivencia celular de las poblaciones adaptadas y aumentan la presencia de células apoptóticas. Estos resultados apoyan el requerimiento de la síntesis de proteínas y ARN para inducir la respuesta⁷⁰.

Dado que Boothman y col. (1992)⁷¹ detectaron cambios en los niveles de transcripción de ciertos genes después de la exposición a radiación ionizante, se han hecho varios experimentos para determinar si dosis bajas de rayos X que inducen adaptación, pueden inducir cambios en los niveles de transcripción de los genes involucrados en la reparación del ADN. En linfocitos humanos expuestos a dosis de adaptación de 0.02 Gy de rayos X, se determinó la presencia de diferentes especies de ARNm no detectadas en el control. Estas especies corresponden a los transcritos de los genes candidatos a estar involucrados en la reparación durante la adaptación. Algunas especies se encontraron en células control pero no en irradiadas, éstas podrían ser la expresión de genes supresores involucrados en la regulación de la reparación del ADN. La respuesta adaptativa podría darse por la inducción de la síntesis de nuevas enzimas o la pérdida del supresor en las células irradiadas⁷². Se ha observado en células humanas que la endonucleasa apurínica/apirimidínica (APE-1), se activa por exposición a dosis bajas de especies reactivas de oxígeno o agentes que las generan, como la radiación ionizante. Dicha enzima está involucrada directamente en el proceso de reparación por excisión de bases. La expresión incrementada de la APE-1 se observó en células HeLa y fibroblastos primarios, y se relacionó directamente con el incremento en la supervivencia celular frente a dosis altas de estos agentes⁷³.

Así mismo, se ha reportado que dosis bajas de radiación ionizante inducen la activación de la enzima proteína cinasa C (PKC), que funciona como un mediador de señales para la activación de ciertos genes involucrados en la reparación del ADN⁷⁴. La participación de la PKC en la respuesta adaptativa se ha visto apoyada por diversos trabajos. El incremento en la supervivencia celular, que se produjo en células V79 de criceto, como parte de la respuesta adaptativa inducida por radiación, se bloqueó cuando la dosis de adaptación se realizó en presencia de H-7 que es un inhibidor de la PKC⁴². Se ha detectado que la sobreexposición de células m5S de ratón, al 12-O tetradecanoilforbol-13 acetato (TPA), que es un inhibidor de la PKC, bloquea la adaptación inducida por radiación evaluada en términos de la inducción de aberraciones cromosómicas y mutaciones. Sin embargo, el TPA aplicado por intervalos cortos, actúa como un activador directo de la PKC y dicho tratamiento reemplaza la dosis de adaptación del

agente genotóxico; esto indica una vía común en la inducción de adaptación a través de señales activadas por dosis bajas de radiación, de H_2O_2 y por TPA⁷⁵.

También se ha demostrado en células cultivadas de ratón, que dosis bajas de rayos X activan a la PKC e inducen su traslocación del citosol a la membrana. Las dosis más altas no inducen adaptación y disminuyen dramáticamente el nivel total de la PKC. La activación de dicha proteína y la respuesta adaptativa reflejada en una producción menor de aberraciones cromosómicas, se bloquean mediante el calfostin C que inhibe a la PKC. Además, se detectó que estas dosis bajas activan otra proteína conocida como p38 proteína cinasa, la cual a su vez induce una cascada de reacciones para la activación de la PKC. Estos resultados indican un mecanismo de regulación coordinada de la respuesta adaptativa, mediante un circuito cerrado de señales enviadas entre las proteínas de transducción⁷⁶.

Se han hecho algunos trabajos utilizando la técnica de electroforesis unicelular en gel (EUG) o ensayo cometa para esclarecer de qué manera participa la reparación en el estímulo de la respuesta adaptativa (Fig. 2). Sin embargo, los resultados son variados y en algunos casos contradictorios. Por ejemplo, Ikushima y col. en 1996 reportaron que la tasa de reparación de las rupturas de doble cadena fue mayor en las células adaptadas con 0.015 Gy y expuestas a 1.5 ó 5 Gy 4 hrs más tarde, que en las células que no se expusieron a la dosis de adaptación. De igual forma, el daño residual después de 120 min siempre resultó menor en la población adaptada y no se detectaron diferencias significativas en el daño inicial observado entre ambas poblaciones. Con estos resultados se llegó a la conclusión de que las dosis bajas de radiación ionizante, incrementan la capacidad celular para reparar las rupturas en el ADN y que la respuesta no es el resultado de la activación de funciones radioprotectoras.

En el mismo año, otros autores realizaron algunos experimentos con linfocitos humanos, expuestos a 0.05 Gy como dosis de

adaptación y 2.0 Gy como dosis de reto, con un intervalo de 5 hrs entre ambas exposiciones. Con la técnica de EUG detectaron un menor daño inicial, así como una tasa mayor de reparación en las células preadaptadas; aunque la adaptación no se reflejó en la frecuencia de aberraciones cromosómicas ni en la tasa de proliferación celular. Analizando la distribución de los cometas por tamaño, determinaron que la diferencia en la cinética de reparación entre ambas poblaciones celulares, se debía a la presencia de una subpoblación de linfocitos con reparación más lenta en las células no adaptadas, que desaparece después de la exposición a la dosis de adaptación. Se sugirió que dicha población puede ser eliminada mediante un proceso apoptótico. Se sabe que dosis bajas de radiación ionizante inducen apoptosis en linfocitos *in vitro*, y recientemente se ha sugerido que dicho proceso está asociado con la respuesta adaptativa⁷⁷. Sin embargo, en las preparaciones de las células adaptadas no se observaron núcleos fragmentados o picnóticos, que normalmente se detectan en células apoptóticas. Por lo tanto, dicha hipótesis requiere de mayor investigación para confirmarse²².

También existen datos que indican que la respuesta adaptativa no siempre va acompañada de una reparación más rápida del ADN, o viceversa; una cinética de reparación elevada puede no relacionarse con el proceso de adaptación, evaluado en términos de aberraciones cromosómicas o de micronúcleos. Tal es el caso de los resultados obtenidos por Wojewodskay col. (1997)⁷⁸, quienes trataron de establecer una relación entre la inducción de respuesta adaptativa, la cinética de reparación del ADN, la transducción de señales y la frecuencia de micronúcleos. Ellos utilizaron H_2O_2 ó rayos X para inducir la adaptación, N-N dietilamino-octil-3,4,5-trimetoxibenzoato (TMB-8) como antagonista del calcio y estaurosporina como inhibidor de la PKC, para bloquear la transducción de señales. Ellos observaron una reducción del 30% en la frecuencia de micronúcleos inducidos, con relación a la frecuencia esperada suponiendo un efecto aditivo entre las dosis de adaptación y la de reto. Los tratamientos con estaurosporina o con TMB-8 bloquearon por completo la respuesta adaptativa. No obstante, no se observaron

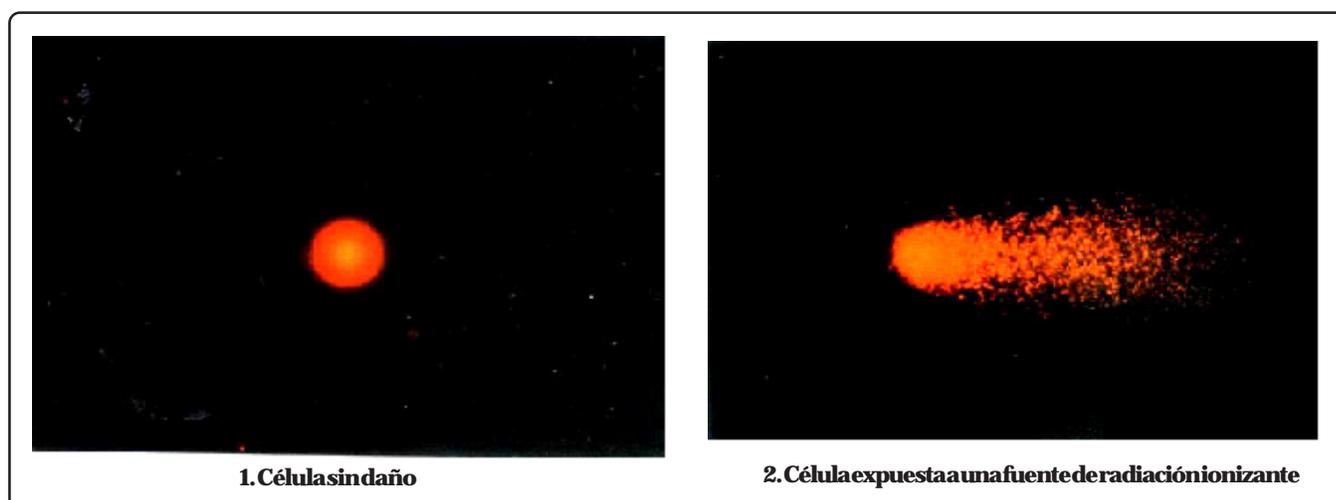


Figura 2. Fotografías de las células obtenidas con la técnica de Electroforesis Unicelular en Gel (EUG) o ensayo cometa.

diferencias en la cinética de reparación analizada por EUG, entre los linfocitos adaptados y no adaptados. Por lo tanto, la frecuencia baja de micronúcleos en los linfocitos preadaptados no está relacionada con la tasa de reparación medida por EUG. Incluso detectaron que el daño al tiempo cero, fue estadísticamente menor en las células no adaptadas, que en las preexpuestas a dosis bajas de rayos X o de H₂O₂. Asimismo, no hubieron diferencias en la tasa de reparación en los linfocitos incubados con estaurosporina o TMB-8. Considerando que al promediar la cantidad de daño en las células en cada tiempo medido en función de la migración del ADN, se pudiera enmascarar la presencia de subpoblaciones celulares con diferentes tasas de reparación, se compararon las distribuciones de dicho parámetro, en los linfocitos expuestos tanto a la dosis de adaptación como a la dosis de adaptación en presencia de estaurosporina y sin dosis de adaptación. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en los patrones de distribución entre los diferentes tratamientos a los tiempos escogidos (0, 30 y 60 min). Por lo tanto, no hay evidencia de que la adaptación se dé como resultado de la eliminación de una subpoblación con tasa de reparación más lenta, como lo había reportado Wojcik y col (1996)²². Se concluyó que el tratamiento con agentes que interfieren con la transducción de señales, bloquean la inducción de la respuesta adaptativa por dosis bajas de rayos X o peróxido de hidrógeno⁷⁸.

Es probable que toda una red de señales esté interconectada

dentro de una célula estresada, en la que los canales de calcio y la PKC son componentes primordiales⁷⁹. En cuanto a la participación del calcio en la regulación de señales, se ha reportado que el tratamiento con el anticuerpo anti-CD38 altera las señales involucradas en la respuesta adaptativa. Se sabe que CD38 es una proteína que influye sobre la actividad del adenosín difosfato cíclico (cADP), que a su vez es un agente liberador de calcio⁸⁰. Esta observación apoya la importancia del calcio en la adaptación. Se ha reportado que el TPA, el adenosín monofosfato cíclico (cAMP) y los iones de calcio, regulan la comunicación intercelular mediante uniones estrechas, lo cual es indispensable para la inducción de radioadaptación en las células de embriones humanos⁸¹.

Se ha asumido que el daño al ADN genera una señal de alarma en el núcleo; esta señal es enviada al citosol, y a través de una vía de transducción de señales mediada por la PKC, regresa al núcleo activando ciertos genes involucrados en la síntesis de una batería de enzimas, que participan en la progresión del ciclo celular, la apoptosis, la replicación, la transcripción y la reparación del ADN^{82,83} (Fig. 3).

2. Estimulación de sistemas detoxificantes

También existen datos que apoyan la hipótesis de que la respuesta adaptativa se puede deber, a que las dosis bajas de radiación activan algún sistema de defensa antioxidante, que incrementa la eficiencia para remover radicales tóxicos. Se ha

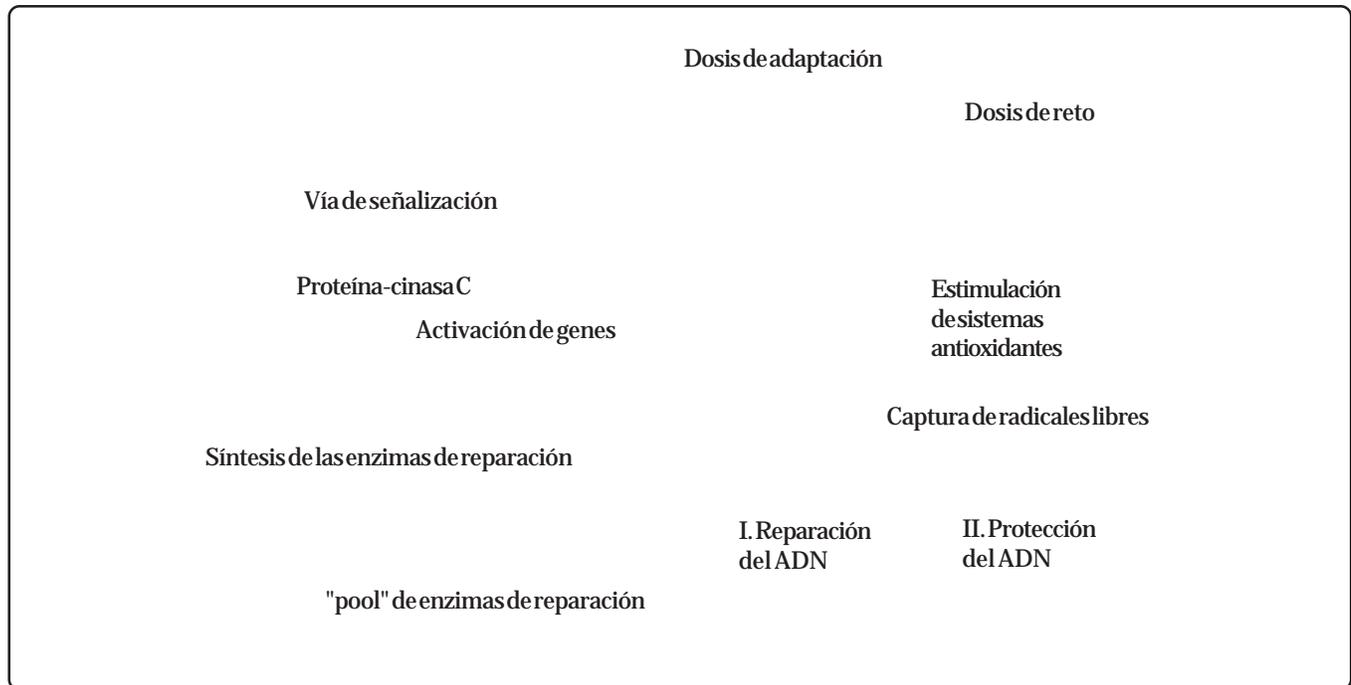


Figura 3. Proceso molecular de la respuesta adaptativa. I. Reparación del ADN. Una dosis baja de radiación ionizante (dosis de adaptación) incide sobre el ADN y genera una señal que es enviada al citosol. Posteriormente, regresa al núcleo a través de una vía de transducción de señales mediada por la proteína-quinasa C, disparando la activación de genes que codifican para las enzimas de reparación. Se sintetiza una gran cantidad de dichas proteínas que se acumulan en la célula, dando como resultado una mejor eficiencia en la reparación del daño en el ADN inducido por la exposición a una dosis mayor de radiación ionizante (dosis de reto). II. Protección del ADN. Otra posibilidad es que la dosis de adaptación estimule la síntesis de moléculas antioxidantes que pueden capturar a los radicales libres altamente dañinos que se generarían por una exposición posterior a la dosis de reto, evitando así que se dañe el ADN.

comprobado que la exposición a dosis bajas de radiación promueve la síntesis de proteínas relacionadas con la remoción de radicales libres⁸⁴⁻⁸⁶ (Fig. 3).

Zhang y col., en 1998²⁶, investigaron los efectos de la pre-exposición *in vivo* a dosis bajas de iones $^{16}\text{O}^{8+}$ o de rayos gamma, sobre las anomalías en la cuenta espermática y en la morfología de los espermatozoides, inducidas por dosis altas del mismo agente. Estos datos se correlacionaron a su vez con el nivel de la peroxidación lipídica de membranas y con la actividad de la superóxido dismutasa (SOD). En todos los casos se observó que la dosis de adaptación incrementa la resistencia del tejido. Se propuso que el mecanismo responsable de dicha respuesta, es a través del incremento en la actividad de la SOD y la disminución de la peroxidación lipídica, ya que ambos eventos se manifestaron por la exposición a la dosis de adaptación. La capacidad de la célula para capturar radicales libres, principalmente superóxido, se vio altamente favorecida por la SOD, lo cual a su vez redujo la posibilidad de que dichas especies reactivas interactuaran con el ADN y produjeran diversos tipos de daño.

La metalotioneína (MT) es otra proteína importante que se ha detectado durante la inducción de respuesta adaptativa y que se ha considerado en gran parte como responsable de la resistencia que se presenta frente a ciertos agentes como metales, tetracloruro de carbono (CCl_4), radiación ionizante y radicales libres. Dicha proteína intracelular contiene grandes cantidades de grupos tioles (30% cisteína); su función principal es la destoxificación de iones metálicos y como atrapador efectivo de radicales libres, principalmente superóxido, hidróxido y otros radicales orgánicos⁸⁷. Se sabe que la exposición a radiación ionizante incrementa el contenido de metalotioneína en el hígado de rata, de manera similar al efecto producido con otros agentes como el oxígeno, el CCl_4 y el Zn⁸⁸. La MT tiene una función inhibitoria sobre la peroxidación lipídica que induce la radiación ionizante en las membranas celulares, y se ha reportado que captura los radicales libres, lo cual reduce la citotoxicidad e incrementa la supervivencia celular⁸⁹. El tratamiento de linfocitos de conejo *in vivo* e *in vitro* con sales de Zn disminuye la frecuencia de aberraciones cromosómicas inducida por radiación gamma. Este resultado se correlacionó con el incremento en la concentración de MT 24 hrs después del tratamiento. Estos datos sugieren fuertemente que la síntesis de MT debe actuar como uno de los mecanismos de defensa en la inducción de respuesta adaptativa por radiación ionizante^{90,91}.

3. Inducción de apoptosis

También el incremento en la muerte celular programada o apoptosis, ha sido considerado como otro mecanismo posible que participa en la inducción de la respuesta adaptativa, dado que ocurre con mayor frecuencia dentro del rango de dosis bajas⁹². Además, el pretratamiento con dosis bajas de radiación o con un aumento moderado en la temperatura, sensibiliza a las células a la inducción de apoptosis por la exposición prolongada a radiación ionizante⁷⁷. La proteína p53, que es un supresor de tumores, constituye un factor importante en la regulación de

apoptosis inducida por radiación. En células con el gene p53 alterado o deficiente, la capacidad de iniciar procesos apoptóticos después de la exposición a radiación ionizante disminuye considerablemente, lo que propicia que las células dañadas se conserven en la población⁹³.

CONCLUSIONES

Se puede decir que la respuesta adaptativa es la expresión del incremento en la eficiencia de los procesos de reparación, de la activación de los sistemas de captura de radicales libres y en algunos casos de la inducción de la muerte celular programada, debido a la exposición a dosis bajas de algún agente genotóxico. Es probable que no sólo un mecanismo esté involucrado, sino que sea el resultado de una serie de eventos relacionados, cuya participación puede depender de varios factores como el tipo de agente, las dosis de adaptación y reto, el tipo celular, las condiciones *in vivo* e *in vitro* y el índice de daño que se analice.

La inducción de la respuesta adaptativa por dosis bajas de radiación tiene implicaciones importantes en la salud humana⁹⁴, tanto por las respuestas que se puedan presentar frente a la exposición intencional durante la radio y quimioterapia del cáncer como por la exposición involuntaria a diferentes agentes genotóxicos, ya sea debido a situaciones laborales o por el deterioro ambiental.

La motivación para continuar con el estudio de la respuesta adaptativa está basada en el deseo de comprender a fondo los mecanismos moleculares que participan en su inducción y regulación, así como para conocer si este fenómeno afecta la estimación del riesgo inducido por dosis bajas de radiación en la incidencia de mutación y cáncer en las poblaciones humanas. La identificación de los transcritos y la definición del papel de las proteínas, cuya síntesis se incrementa por dosis bajas de radiación y que se requieren para la inducción de la respuesta adaptativa, facilitará la comprensión de los mecanismos involucrados en dicho proceso.

REFERENCIAS

1. Sasaki K, Okada S. Radiation-induced DNA damage and cellular lethality in cultured mammalian cells. *Radiat Res* 1984; 98: 479-490.
2. Teoule R. Radiation induced DNA damage and its repair. *Int J Radiat Biol* 1987; 51: 573-589.
3. Hagen U. Current aspects on the radiation induced base damage in DNA. *Radiat Environ Biophys* 1986; 25: 261-271.
4. Selman J. *Elements of Radiobiology*. Springfield, EUA: Thomas Publisher, 1983: 311.
5. Price A. The repair of ionizing radiation-induced damage to DNA. *Radiat Environ Biophys* 1993; 25: 261-271.
6. Mendiola-Cruz MT, Morales-Ramírez P. Effect of pretreatment with cysteamine on gamma-radiation-induced sister chromatid exchanges in mouse bone marrow cells *in vivo*. *Radiat Res* 1989; 118: 131-138.
7. Jeggo P, Defais, Samson L, Schendel P. An adaptive response of *E. Coli* to low levels of alkylating agent: Comparison with previous characterised DNA repair pathways. *Molec Gen Genet* 1977; 157: 1-9.

8. Samson L, Cairns J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*. *Nature* 1977; 267: 281-282.
9. Samson L, Schwartz J. Evidence for an adaptive DNA repair pathway in CHO and human skin fibroblast cell lines. *Nature* 1980; 281:861-863.
10. Montesano R, Bresil H, Drevon C, Piccoli C. DNA repair in mammalian cells exposed to multiple doses of alkylating agents. *Biochimie* 1982; 64:591-594.
11. Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentration of radioactive thymine. *Science* 1984; 223: 594-597.
12. Wiencke J, Afzal V, Olivieri G, Wolff S. Evidence that the [3H]thymidine-induced adaptive response of human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism. *Mutagenesis* 1986; 1:375-380.
13. Shadley J, Afzal V, Wolff S. Characterization of the adaptive response to ionizing radiation induced by low doses of X-rays to human lymphocytes. *Radiat Res* 1987; 111:511-517.
14. Sankaranarayanan K, von Duyn A, Loos M, Natarajan A. Adaptive response of human lymphocytes to low-level radiation from radioisotopes or X-rays. *Mutat Res* 1989; 211:7-12.
15. Ikushima T. Chromosomal responses to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1987; 180:215-221.
16. Cai L, Liu S. Induction of cytogenetic adaptive response of somatic and germ cells in vivo and in vitro by low-dose X-irradiation. *Int J Radiat Biol* 1990; 58: 187-194.
17. Wojcik A, Tuschl H. Indications of an adaptive response in C57BL mice pre-exposed in vivo to low doses of ionizing radiation. *Mutat Res* 1990; 243:67-73.
18. Bosi A, Olivieri G. Variability of the adaptive response to ionizing radiations in humans. *Mutat Res* 1989; 211:13-17.
19. Youngblom J, Wiencke J, Wolff S. Inhibition of the adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionizing radiation by the protein synthesis inhibitor cycloheximide. *Mutat Res* 1989; 227:257-261.
20. Vijayalaxmi, Leal B, Deahl T, Meltz M. Variability in adaptive response to low dose radiation in human blood lymphocytes: consistent results from chromosome aberrations and micronuclei. *Mutat Res* 1995; 348:45-50.
21. Flores M, Pinero J, Ortiz T, Pastor N, Mateos J, Cortes F. Both bovine and rabbit lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide show an adaptive response to radiation damage. *Mutat Res* 1996; 372:9-15.
22. Wojcik A, Sauer C, Zolzer F, Bauch T, Muller W. Analysis of DNA damage recovery processes in the adaptive response to ionizing radiation in human lymphocytes. *Mutagenesis* 1996; 11:291-297.
23. Belyaev I, Spivak I, Kolman A, Harms-Ringdahl M. Relationship between radiation induced adaptive response in human fibroblasts and changes in chromatin conformation. *Mutat Res* 1996; 358:223-230.
24. Cai L, Jiang J, Wang B, Yao H, Wang X. Induction of an adaptive response to dominant lethality and to chromosome damage of mouse germ cells by low dose radiation. *Mutat Res* 1993; 303:157-161.
25. Cai L, Wang P. Induction of a cytogenetic adaptive response in germ cells of irradiated mice with very low-dose rate of chronic gamma-irradiation and its biological influence on radiation-induced DNA or chromosomal damage and cell killing in their male offspring. *Mutagenesis* 1995; 10:95-100.
26. Zhang H, Zheng R, Wei Z, Li W, Gao Q, Chen W, Wang Z, He J, Liang J, Han G, Huang T, Li Q, Zhang S, Cai X. Effects of pre-exposure of mouse testis with low-dose O⁺ ions or 60 Co γ -rays on sperm shape abnormalities, lipid peroxidation and superoxide dismutase (SOD) activity induced by subsequent high-dose irradiation. *Int J Radiat Biol* 1998; 73: 163-167.
27. Cortés F, Domínguez I, Pinero J, Mateos J. Adaptive response in human lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide before irradiation with X-rays. *Mutagenesis* 1990; 5:555-557.
28. Seong J, Kim G. Adaptive response to ionizing radiation induced by low dose of gamma ray in human hepatoma cell lines. *Yonsei Med J* 1994; 35:77-83.
29. Kim J, Hahm K, Cho C, Yoo S. Protein biosynthesis in low dose ionizing radiation-adapted human melanoma cells. *Int J Radiat Res* 1996; 37:161-169.
30. Sadekova S, Lehnert S, Chow T. Induction of PBP74/mortalin/Grp75, a member of the hsp70 family, by low doses of ionizing radiation: a possible role in induced radioresistance. *Int J Radiat Biol* 1997; 72:653-660.
31. Mitchel R, Jackson J, McCann R, Boreham D. The adaptive response modifies latency for radiation-induced myeloid leukemia in CBA/H mice. *Radiat Res* 1999; 152:273-279.
32. Park S, Lee Y, Jeong K, Yoo S, Cho C, Lee Y. Different induction of adaptive response to ionizing radiation in normal and neoplastic cells. *Cell Biol Toxicol* 1999; 15:111-119.
33. Bai Y, Chen D. Accumulative effect of two low doses of irradiation in inducing an adaptive response in human lymphocytes. *Mutat Res* 1993; 302:191-196.
34. Fan S, Vijayalaxmi, Mindek G, Burkart W. Adaptive response to 2 low doses of X-rays in human blood lymphocytes. *Mutat Res* 1990; 243:53-56.
35. Kalina I, Konecna H, Nemethova G, Racekova N. Adaptive response to ionizing radiation in normal and aneuploid human lymphocytes. *Folia Biol* 1994; 40:119-123.
36. Kalina I, Nemethova G. Variability of the adaptive response to low dose radiation in peripheral blood lymphocytes of twins and unrelated donors. *Folia Biol* 1997; 43:91-95.
37. Farooqi Z, Kesavan P. Low-dose radiation-induced adaptive response in bone marrow cells of mice. *Mutat Res* 1993; 302:83-89.
38. Venkat S, Chaubey R, Chauhan P. Radio-adaptive response in human lymphocytes in vitro. *Indian J Exp Biol* 1996; 34:909-912.
39. Gourabi H, Mozdarani H. A cytokinesis-blocked micronucleus study of the radioadaptive response of lymphocytes of individuals occupationally exposed to chronic doses of radiation. *Mutagenesis* 1998; 3:475-480.
40. Zhou P, Liu X, Sun W, Zhang Y, Wei K. Cultured mouse SR-1 cells exposed to low dose of gamma-rays become less susceptible to the induction of mutagenesis by radiation as well as bleomycin. *Mutagenesis* 1993; 8:109-111.

41. Zhou P, Xiang X, Sun W, Liu X, Zhang Y, Wei Khou P. Adaptive response to mutagenesis and its molecular basis in a human T-cell leukemia line primed with a low dose of gamma-rays. *Radiat Environ Biophys* 1994; 33:211-217.
42. Ibuki Y, Goto R. Adaptive response to low doses of gamma-ray in Chinese hamster cells: determined by cell survival and DNA synthesis. *Biol Pharm Bull* 1994; 17:1111-1113.
43. Schmid E, Bauchinger M, Nahrstedt U. Adaptive response after X-irradiation of human lymphocytes. *Mutagenesis* 1989; 4:87-89.
44. Bauchinger M, Schmid E, Braselmann H, Nahrstedt U. Absence of adaptive response to low-level irradiation from tritiated thymidine and X-rays in lymphocytes of two individuals examined in serial experiments. *Mutat Res* 1989; 227:103-107.
45. Wojcik A, Streffer C. Application of a multiple fixation regimen to study the adaptive response to ionizing radiation in lymphocytes of two human donors. *Mutat Res* 1995; 326:109-116.
46. Padovani L, Appolloni M, Anzidei P, Tedeschi B, Caporossi D, Vernole P, Mauro F. Do human lymphocytes exposed to the fallout of the Chernobyl accident exhibit an adaptive response? 1. Challenge with ionizing radiation. *Mutat Res* 1995; 332:33-38.
47. Tedeschi B, Caporossi D, Vernole P, Padovani L, Appolloni M, Anzidei P, Mauro F. Do human lymphocytes exposed to the fallout of the Chernobyl accident exhibit an adaptive response? 2. Challenge with bleomycin. *Mutat Res* 1995; 332:39-44. Published erratum appears in *Mutat Res* 1996; 356:299-300.
48. Morales-Ramírez P, Vallarino-Kelly T, Rodríguez-Reyes R. No radioadaptive response to micronucleated polychromatic erythrocyte (MN-PCE) induction in murine peripheral blood in vivo. *Environ Mol Mutagen* 1997; 29:289-295.
49. Hain J, Jaussi R, Burkart W. Lack of adaptive response to low doses of ionizing radiation in human lymphocytes from five different donors. *Mutat Res* 1992; 283:137-144.
50. Andersson H, Chiangmai S. No adaptive response of Chinese hamster ovary cells to low doses of ionizing radiation. *Hereditas* 1992; 117:215-222.
51. Tuschl H, Kovac R, Altman H. UDS and SCE in lymphocytes of persons occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Health Phys* 1983; 45:1-7.
52. Sanderson B, Morley A. Exposure of human lymphocytes to ionizing radiation reduces mutagenesis by subsequent ionizing radiations. *Mutat Res* 1986; 164:347-351.
53. Cortés F, Domínguez I, Flores M, Pinero J, Mateos J. Differences in the adaptive response to radiation damage in G₀ human lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide or low-dose X-rays. *Mutat Res* 1994; 311:157-163.
54. Ryabchenko N, Antoshchina M, Fesenko E, Ivanova T, Kondrashova T, Nasonova V. Cytogenetic adaptive response in cultured human lymphocytes: dependence on the time of exposure to adapting and challenging doses of gamma-rays. *Mutat Res* 1998; 418:7-19.
55. Wolff S, Afzal V, Wienke J, Olivieri G, Michaeli A. Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiation become refractory to high doses of radiation as well as to chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA. *Int J Radiat Biol* 1988; 53:39-48.
56. Tedeschi B, Caporossi D, Vernole P, Padovani L, Mauro F. Do human lymphocytes exposed to the fallout of the Chernobyl accident exhibit an adaptive response? III. Challenge with bleomycin in lymphocytes from children hit by the initial acute dose of ionizing radiation. *Mutat Res* 1996; 354:77-80.
57. Barquinero J, Barrios L, Caballin M, Miró R, Ribas M, Subias A, y Egozcue J. Decreased sensitivity to the cytogenetic effects of bleomycin in individuals occupationally exposed to ionizing radiation. *Mutat Res* 1996; 354:81-86.
58. Vijayalaxmi, Burkart W. Resistance and cross-resistance to chromosome damage in human blood lymphocytes adapted to bleomycin. *Mutat Res* 1989; 211:1-5.
59. Wolff S, Wienke J, Afzal V, Youngblom J, Cortés F. The adaptive response of human lymphocytes to chromosomal repair with the induction of specific proteins. *Low dose radiation: Biological Bases of risk assessment*. Londres: K.F. Baverstock and J.W. Stather (Eds.) Taylor & Francis, 1989: 446-454.
60. Moquet J, Prosser J, Edwards A, Lloyd D. Sister-chromatid exchanges induced by mitomycin C after acute or chronic exposure of human lymphocytes to a low dose of X-rays. *Mutat Res* 1989; 227:207-213.
61. Osmak M, Horvat D. Chromosomal analysis of Chinese hamster V79 cells exposed to multiple gamma-ray fractions: induction of adaptive response to mitomycin C. *Mutat Res* 1992; 282:259-263.
62. Tuschl H, Altman H, Kovac R, Topaloglou A, Egg D, Gunther R. Effects of low dose radiation on repair processes in human lymphocytes. *Radiat Res* 1980; 81:1-9.
63. Morales-Ramírez P, Cruz-Vallejo V. In vivo effect of gamma ray pretreatment on sister-chromatid exchange induction by mitomycin C in murine bone marrow cells. *Mutat Res* 1996; 367:225-232.
64. Domínguez I, Panneerselvam N, Escalza P, Natarajan AT, Cortés F. Adaptive response to radiation damage in human lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide as measured by the cytokinesis-block micronucleus technique. *Mutat Res* 1993; 301:135-141.
65. Ueno A, Vannais D, Waldren C. A small dose of gamma-ray decreased the yield of mutants from larger dose in AL chinese hamster-human hybrid cells: evidence for an adaptive response. *Proceedings of the tenth Int Congress of Radiat Res*. Alemania: Hagen (Eds), 1995: 310.
66. Seong J, Suh C, Kim G. Adaptive response to ionizing radiation induced by low doses of gamma rays in human cell lines. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 33: 869-874.
67. Ikushima T. Radio-adaptive response: Involvement of specific genes induction by low doses of ionising radiation. *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*. Amsterdam: T. Suguhara, L. Sagany T. Aoyama (Eds.) Elsevier, 1992: 255-258.
68. Wolff S. Is radiation all bad?. The search for adaptation. *Radiat Res* 1992; 131: 117-132.
69. Meyers M, McCaffrey J, Odegard E, Boothman D. X-ray inducible transcripts and altered cell cycle regulation are involved in adaptive survival responses in human cells. *Radiat Res* 1995; 141: 110-120.
70. Hyun S, Yoon M, Kim T, y Kim J. Enhancement of mitogen-stimulated proliferation of low dose radiation-adapted mouse splenocytes. *Anticancer Res* 1997; 17:225-229.

71. Boothman D, Meyers M, Fukunaka M. y Lee S. Isolation of X-ray-inducible transcripts in radioresistant melanoma cells. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90:7200-7204.
72. Wolff S. The adaptive response in radiobiology: evolving insights and implications. *Environ Health Perspect* 1998; 106 Suppl 1:277-283.
73. Ramana C, Boldogh I, Izumi T, Mitra S. Activation of apurinic/apyrimidinic endonuclease in human cells by reactive oxygen species and its correlation with their adaptive response to genotoxicity of free radicals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:5061-5066.
74. Woloschack G, Chang-Liu CM, Jones PS, Jones & Jones CA. Modulation of gene expression in syrian hamster embryo cells following ionizing radiation. *Cancer Res* 1990; 50:339-344.
75. Sasaki M. On the reaction kinetics of the radioadaptive responses in cultured mouse cells. *Int J Radiat Biol* 1995; 68:281-291.
76. Shimizu T, Kato T Jr, Tachibana A, Sasaki M. Coordinated regulation of radioadaptive response by protein kinase C and p38 mitogen-activated protein kinase. *Exp Cell Res* 1999; 251:424-432.
77. Boreham D, Cregan S, Walker J, Morrison D, Mitchell R. Radiation and hyperthermia induced adaptive response in human lymphocytes: the relationship between apoptosis and chromosome aberrations. *Proceedings of the tenth Int Congress of Radiation Res, Alemania: Hagen U, Jung H, Streffer C. (Eds), 1995: 307.*
78. Wojewodzka M, Kruszewski M, Szumiel I. Effect of signal transduction inhibition in adapted lymphocytes: micronuclei frequency and DNA repair. *Int J Radiat Biol* 1997; 71:245-252.
79. Wojewodska M, Wojcik A, Szumiel I. Faster DNA damage repair in adapted human lymphocytes. *Proceedings of the tenth Int Congress of Radiation Res, Alemania: Hagen U, Jung H, Streffer C. (Eds.), 1994: 307.*
80. Wojewodzka M, Kruszewski M, Szumiel I. Anti-CD38 prevents the development of the adaptive response induced by x-rays in human lymphocytes. *Mutagenesis* 1996; 11: 533-536.
81. Ishii K, Y Watanabe M. Participation of gap-junctional cell communication on the adaptive response in human cells induced by low dose of X-rays. *Int J Radiat Biology* 1996; 69: 291-299.
82. Ikushima T, Aritomi H. y Morisita J. Radioadaptive response: efficient repair of radiation-induced DNA damage in adapted cells. *Mutat Res* 1996; 358:193-198.
83. Szumiel I. Monitoring and signaling of radiation-induced damage in mammalian cells. *Radiat Res* 1998; 150:92-101.
84. Laval F. Pretreatment with oxygen species increases the resistance of mammalian cells to hydrogen peroxide and gamma-rays. *Mutat Res* 1988; 201:73-79.
85. Feinendegen L, Bond V. y Vooz J. Biochemical and cellular mechanism of low dose radiation effects. *Int J Radiat Biol* 1988; 53: 23-27.
86. Yamaoka K, Edamatsu R, Akitane M. Effects of low-dose X-ray irradiation on old rats: SOD activity, lipid peroxidation level and membrane fluidity. *Low dose irradiation and biological defense mechanism, Amsterdam: Suguhara (Eds) Elsevier, 1992: 419-422.*
87. Sato M, Bremner I. Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radical Biol Med* 1993; 14: 325-337.
88. Shiraishi N, Hochadel J, Coogan T, Koropatnik J, Waalkes M. Sensitivity to cadmium-induced genotoxicity in rat testicular cells is associated with minimal expression of the metallothionein gene. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995; 130: 229-236.
89. Matsubara J, Tajima Y, Karasawa M. Metallothionein induction as a potent means of radiation protection in mice. *Radiat Res* 1987; 111: 267-275.
90. Cai Ly Cherian M. Adaptive response to ionizing radiation-induced chromosome aberrations in rabbit lymphocytes: effect of pre-exposure to zinc, and copper salts. *Mutat Res* 1996; 369:233-241.
91. Cai L, Satoh M, Tohyama C. y Cherian M. Metallothionein in radiation exposure: its induction and protective role. *Toxicology* 1999; 132:85-98.
92. Singh N, Stephen R, Schneider E. Technical report: modifications of alkaline microgel electrophoresis for sensitive detection of DNA damage. *Int J Radiat Biol* 1994; 66:23-28.
93. Lee J, Bernstein A. p53 mutations increase resistance to ionizing radiation. *Proc Nat Acad Sci USA* 1993; 90: 5742-5746.
94. Rigaud O, Papadopoulo D, Moustacchi E. Decreased deletion mutation in radioadapted human lymphoblasts. *Radiat Res* 1993; 133: 94-101.