

CAPÍTULO 5

Efectos de la radiación ionizante sobre moléculas y estructuras celulares

Eliana Ocolotobiche

Figura 5.1. Galatea de las esferas. Salvador Dalí.



Nota. Fuente: <https://historia-arte.com/obras/galatea-de-las-esferas>

Introducción

La exposición a RI interrumpe directa o indirectamente el estado bioquímico de un organismo, lo que inicia una serie de eventos moleculares. En general cuando uno piensa en la interacción de las radiaciones ionizantes con las células, la primera idea que surge hace referencia al daño sobre el ADN y a la señalización disparada por dicho suceso. Menos atención se suele dar, a la interacción a nivel citoplasmático, donde se observa perturbación de las reacciones intracelulares de óxido/reducción y estas condiciones pueden permanecer durante días. El cambio del estado redox normal de la célula, es capaz de gatillar una respuesta protectora o dañina que va a contribuir al efecto final de las radiaciones. Este proceso incluye vías de señalización sensibles a este cambio, activación de factores de transcripción, modificaciones en la expresión génica y actividades metabólicas que gobiernan la producción de compuestos oxidantes y reductores.

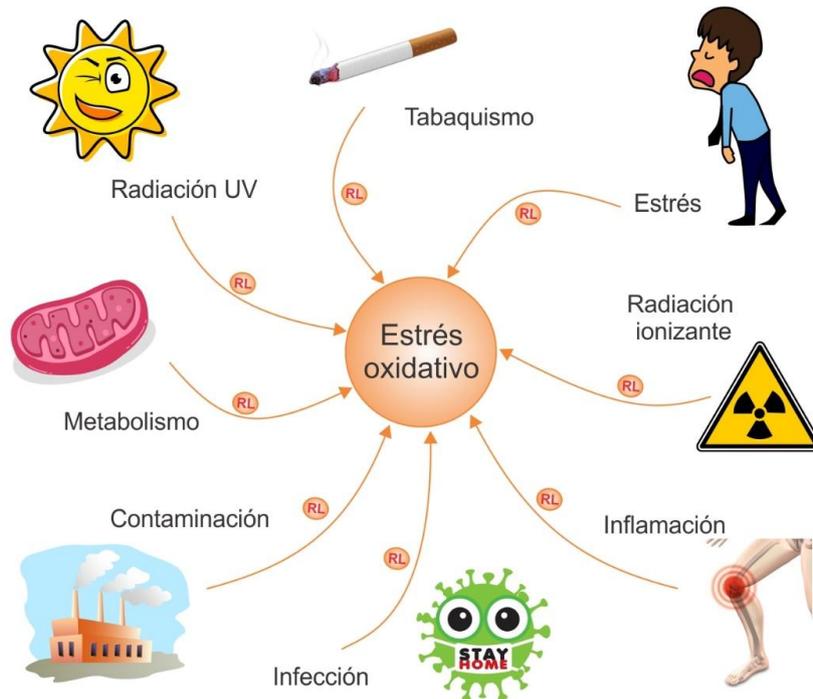
Las radiaciones ionizantes producen radicales libres en los sistemas vivos, que resultan en el daño a moléculas como el ADN, proteínas y lípidos, que en conjunto contribuyen al efecto biológico de las radiaciones. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) radioinducidas, se suman a las ROS que constantemente son producidas por el metabolismo oxidativo celular. A pesar de que las células están adaptadas para tolerar cantidades bajas de ROS, niveles excesivos, que pueden provenir de un desbalance entre producción de oxidantes y respuesta antioxidante, producen un estado de estrés oxidativo, que es muy dañino para la célula, y característico de ciertas condiciones patológicas como la carcinogénesis, la diabetes mellitus y la aterosclerosis.

Fuentes de radicales libres

La mitocondria es considerada la principal fuente de radicales libre. El metabolismo oxidativo se da en este compartimento, conocido como la organela de mayor importancia para la producción de ATP, molécula indispensable para el organismo porque otorga la energía necesaria para todos los procesos vitales. Las células obtienen energía de la oxidación controlada de sustratos (carbohidratos, grasas, etc), de la cual consiguen equivalentes reductores (electrones) necesarios para la cadena transportadora de electrones mitocondrial. Esta cadena está acoplada a la producción de ATP, siendo el oxígeno (O_2) el aceptor final de electrones. Además, se obtienen equivalentes reductores en la forma de NADH y NADPH, esenciales en muchos procesos celulares. Esta estrategia metabólica a pesar de ser fundamental para la homeostasis celular y extremadamente eficiente, lleva a la formación de subproductos como ROS. Asimismo, los Peroxisomas poseen una gran cantidad de enzimas que producen H_2O_2 .

Cabe señalar, que los radicales libres no solamente son formados de manera endógena o por medio de la exposición a radiaciones. Existen otros factores o fuentes que favorecen la formación de estas especies, tales como el tabaquismo, la exposición a contaminantes del aire y productos químicos industriales, las inflamaciones o infecciones y el estrés.

Figura 5.2. Fuentes de radicales libres.



Principales especies reactivas

Las especies reactivas de oxígeno incluyen moléculas químicamente reactivas, derivadas de oxígeno (o derivadas de nitrógeno en el caso de RNS). Algunas de ellas son extremadamente reactivas como el radical hidroxilo y otras menos reactivas como el superóxido. Las formas de ROS más importantes son el anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y óxido nítrico. El **anión superóxido** ($O_2^{\cdot-}$), es un radical libre muy abundante y el más común a nivel celular, pero no muy reactivo y no es capaz de traspasar las membranas lipídicas. Se produce en ambientes aerobios ricos en electrones, como la cercanía de la membrana mitocondrial interna o por la acción de enzimas como la lipooxigenasa o ciclooxigenasa. El **peróxido de hidrógeno** (H_2O_2), no es un radical libre, dado que no posee electrones desapareados, pero es una molécula muy importante ya que tiene la capacidad de penetrar membranas biológicas y es intermediario en la producción de la mayoría de los radicales libres, siendo el radical hidroxilo uno de los más importantes. Además, es una molécula de señalización intracelular, que interviene en procesos como la regulación de la concentración intracelular de calcio. El **radical hidroxilo** ($\cdot OH$) es muy reactivo y tiene una vida media corta, en tanto reacciona rápida e inespecíficamente con los blancos celulares más cercanos. Es capaz de causar más daño celular que cualquier otro ROS ya que las células no poseen un sistema enzimático capaz de neutralizarlo. El **óxido nítrico** ($\cdot NO$) no reacciona fácilmente con la mayoría de las biomoléculas, pero sí con otros radicales libres. En concentraciones fisiológicas funciona como un mensajero intracelular y también es capaz de atravesar la membrana celular transmitiendo señales a otras células. El

efecto de $\cdot\text{NO}$ sobre el estado redox es multifacético, ya que puede actuar como oxidante en algunas situaciones y antioxidante en otras.

Las ROS pueden reaccionar con la mayoría de las biomoléculas desencadenando una reacción de formación de radicales libres. Para frenar esta reacción un radical libre debe reaccionar con otro radical libre, eliminando el electrón desapareado o con un *scavenger* (secuestrador) de radicales libres.

Efecto de ROS y RNS inducidos por radiación

Figura 5.3. Principales especies reactivas.



Los efectos perjudiciales de las RI se asocian principalmente con la sobreproducción de ROS, lo que provoca efectos tóxicos en los sistemas biológicos. El exceso de producción de ROS en comparación con antioxidantes endógenos disponibles conduce al daño oxidativo. Esto provoca efectos nocivos en las macromoléculas celulares, lo que lleva al daño estructural y funcional de las células.

Interacción con el ADN

El ADN es el objetivo principal de las RI. Como vimos, el daño radioinducido se caracteriza por la presencia de purinas y pirimidinas oxidadas, mutaciones puntuales y rupturas de simple (SSB) y doble cadena (DSB), entre otros. Mientras las SSB a menudo se reparan eficazmente mediante mecanismos celulares, la reparación de las DSB es difícil y puede inducir muerte celular o mutagénesis. Por lo tanto, el daño en el ADN puede causar cáncer, alteraciones en funciones celulares vitales y envejecimiento.

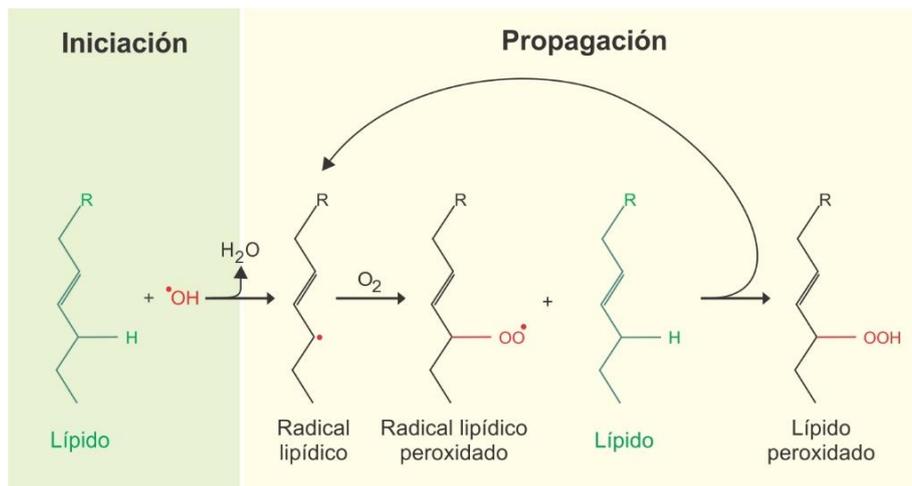
Interacción con lípidos

Las membranas biológicas están compuestas principalmente por fosfolípidos, organizadas como una bicapa lipídica con proteínas transmembrana (que atraviesan la bicapa lipídica), proteínas intrínsecas (proteínas insertas en la membrana) y proteínas periféricas (proteínas asociadas a la membrana o a otras proteínas). La localización de las proteínas en las membranas no es al azar, sino que son sintetizadas y localizadas de manera definida, de acuerdo a sus propiedades, estructura y función.

Las propiedades funcionales de la MP están dirigidas principalmente por las proteínas y su orientación, pero las propiedades biofísicas están impuestas por los lípidos. Los parámetros biofísicos, como son la fluidez de la membrana, resistencia a cambios de curvatura y tensión son controlados por la naturaleza química y concentración de lípidos. Estos factores impactan directamente en la función de las proteínas transmembrana y como consecuencia en la capacidad de la MP de regular la comunicación intercelular. Otros mecanismos que no involucran proteínas, pero si deformaciones de la MP (endocitosis, exocitosis, fusión de membranas) también están determinados por cambios en la composición lipídica.

El componente lipídico de las membranas celulares tiene una exposición significativa al entorno celular acuoso. Aunque la radiación es capaz de dañar directamente los lípidos, el daño indirecto inducido por los productos de radiólisis del agua (ROS) es el que contribuye en mayor medida a la modificación general de los lípidos por RI. La radiación induce la peroxidación de lípidos, en particular la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados. Estos lípidos poseen enlaces dobles entre algunos de sus átomos de carbono que son susceptibles al ataque de los ROS. La iniciación de la peroxidación lipídica ocurre por el ataque de una especie lo suficientemente reactiva como para sustraer un átomo de hidrógeno de un grupo metileno (-CH₂-) generando un radical lipídico. Ésta molécula sufre rearrreglos para obtener un radical lipídico más estable, que en presencia de oxígeno es capaz de reaccionar con otra molécula lipídica generando un nuevo radical lipídico y convirtiéndose en hidroperóxido lipídico. El nuevo radical lipídico generado puede reaccionar con un nuevo ácido graso empezando el ciclo otra vez. De esta manera, la ROS ha iniciado un proceso autopropagado de degeneración oxidativa de moléculas lipídicas polinsaturadas.

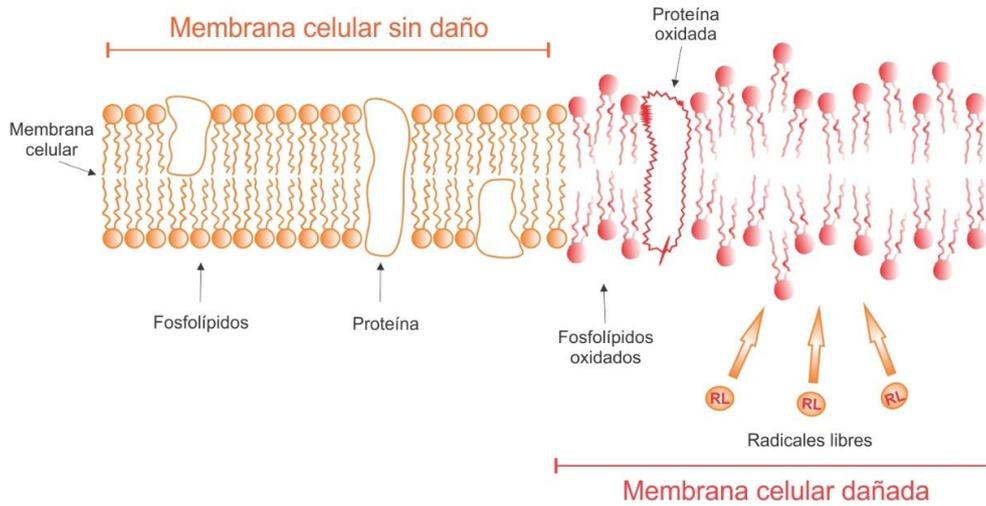
Figura 5.4. Peroxidación de lípidos.



Este proceso conduce a un aumento de la permeabilidad de la membrana, la interrupción de los gradientes iónicos y otros procesos y la alteración de la actividad de las proteínas asociadas a la membrana. Finalmente la inhabilidad de la MP para mantener la homeostasis iónica puede resultar en la muerte. Los niveles moderados de hidroperóxido lipídico activan la respuesta al estrés oxidativo que, cuando resulta sobrepasada, conduce a la apoptosis. Por otro lado, niveles

altos y generalizado hidroperóxido lipídico, dan como resultado un daño global a la membrana celular y al contenido intracelular, lo que desencadena la lisis y necrosis.

Figura 5.5. Perturbación de la membrana celular por radicales libres.



Los estudios de RI dirigidos a la membrana celular revelaron la inducción de apoptosis a 5-10 Gy a través de niveles elevados de ceramida. Este resultado se observó incluso en células sin núcleo, revelando otra vía de daño celular por RI independiente del daño al ácido nucleico. Las ceramidas se generan en respuesta a la irradiación celular y funcionan como segundos mensajeros para estimular una cascada de quinasas y factores de transcripción que están involucrados en diversas respuestas celulares.

Interacción con proteínas

Las proteínas presentes en el interior de las células son objetivos biológicos críticos para el daño oxidativo y se ven afectados directa o indirectamente por RI de muchas maneras, tales como oxidación, escisión, carbonilación, entrecruzamiento de proteínas, conversión de aminoácidos y reacciones redox inducidas por ROS. En general, la principal consecuencia de la interacción radiación-proteína es su desnaturalización, es decir una alteración de la estructura nativa (más estable) que modifica su funcionalidad. Así, al verse afectada la estructura y función de las proteínas, pueden modificarse procesos fundamentales para las células como por ejemplo la señalización o el tráfico celular.

Muerte celular

Tal como analizamos previamente, el estrés oxidativo causa un desequilibrio en el estado redox de las células, que daña biomoléculas como proteínas y lípidos, esto puede ocasionar la despolarización de la MP y/o de la membrana mitocondrial precipitando la muerte celular.

La despolarización mitocondrial conduce a la liberación de citocromo C en el citoplasma, activando luego la cascada de caspasas. La activación de la vía de las caspasas produce la fragmentación del ADN y escisión de proteínas citosólicas y nucleares, lo que lleva a la muerte celular. Por otro lado, el daño inducido por las RI o el estrés oxidativo severo inician otra vía de apoptosis, que está mediada por la proteína p53 activada. Esta vía también lleva a la muerte celular por intermedio de la liberación de citocromo C.

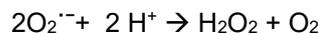
Sistema de defensa antioxidante

Los organismos evolutivamente desarrollaron sistemas de defensa antioxidante, para poder neutralizar a las especies reactivas. Un antioxidante es toda sustancia que retarda o previene la oxidación de un sustrato oxidable. El sistema de defensa antioxidante se puede dividir en dos grupos: el sistema enzimático y el de compuestos antioxidantes de bajo peso molecular (no enzimático).

Sistemas de defensa enzimático

Se puede destacar la acción de las enzimas Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa y Glutación peroxidasa (GPx):

La **Superóxido dismutasa** cataliza la inactivación del radical $O_2^{\cdot-}$. La SOD mitocondrial contiene Mn (Mn-SOD) y es esencial, ya que en la mitocondria el $O_2^{\cdot-}$ se genera en niveles muy altos debido a la fuga de electrones de la cadena respiratoria. La expresión Mn-SOD es inducida por estrés oxidativo. La SOD citosólica que contiene Cu/Zn (Cu/Zn-SOD) parece ser menos importante que la mitocondrial, dado que animales transgénicos que no poseen la enzima funcional presentan un fenotipo aparentemente normal, a diferencia de aquellos ratones donde la Mn-SOD no es funcional, que mueren pronto luego de nacer. La SOD cataliza la dismutación del superóxido:



La **Catalasa** se encuentra principalmente en peroxisomas y mitocondrias donde hay una gran producción de H_2O_2 , cataliza la dismutación del peróxido de hidrogeno.



La **Glutación peroxidasa** es una selenoproteína, que utiliza **GSH**, como agente reductor. Cataliza la reducción de H_2O_2 y otros hidroperóxidos orgánicos en agua y alcohol. En esta reacción dos moléculas de GSH se oxidan a glutación disulfuro (GSSG), y una molécula de hidroperóxidos orgánicos en alcohol y agua.



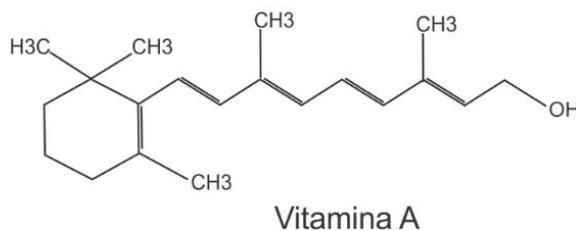
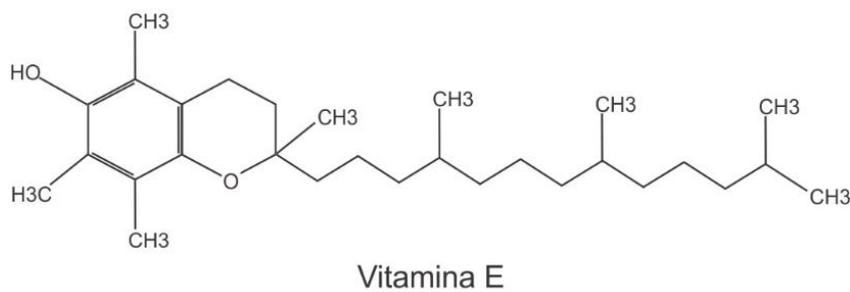
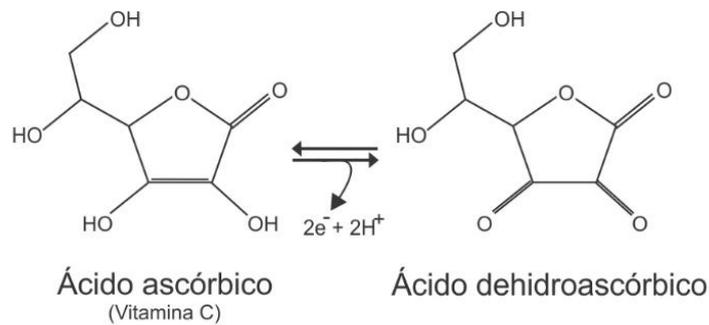
Sistema de defensa no enzimático

Comprende un conjunto de moléculas antioxidantes tanto hidrófobas como hidrofílicas que tienen como función capturar radicales libres y generar moléculas menos nocivas para la célula. Dentro de este grupo se destacan las vitaminas C y E, compuestos de selenio y polifenoles. Asimismo, se ha percibido que el aumento o disminución en los niveles intracelulares de grupos -SH, origina cambios paralelos en la supervivencia celular.

La Vitamina C se encuentra a nivel intra y extracelular en la forma de ácido ascórbico (especie reducida), actúa directamente sobre los radicales superóxido, hidroxilo y algunos hidroperóxidos lipídicos entregando electrones para generar especies más estables (Figura 5.6), a costas de su propia oxidación a ácido dehidroascórbico (especie oxidada).

Dentro de los polifenoles se encuentra un amplio grupo de compuestos que son capaces de capturar ROS. Pueden ser de tipo lipo e hidrosolubles y se ubican tanto intra como extracelularmente. Dentro de este grupo se encuentran la vitamina E, la vitamina A y la ubiquinona (coenzima Q), entre otros.

Figura 5.6. Sistema de defensa antioxidante no enzimático.



Radioprotectores

Los radioprotectores (RP) son todos aquellos compuestos capaces de reducir la toxicidad de las radiaciones. Si bien la RI se utiliza en radioterapia para el tratamiento del cáncer, ya sea con fines paliativos o curativos, la exposición a largo plazo causa efectos secundarios negativos en el cuerpo, como cáncer, enrojecimiento de la piel, disminución de la inmunidad y daño grave a los órganos y tejidos. Por tanto, desde el punto de vista clínico, es fundamental desarrollar RP específicos, que sean capaces de aminorar el daño sobre tejidos sanos sin ejercer acción citoprotectora sobre los tumores. Estos compuestos también son importantes en exposiciones radiantes no planificadas, como la radiación natural de fondo, viajes espaciales y desastres nucleares. Si bien numerosos compuestos químicos y biológicos están siendo examinados en todo el mundo, entre otras propiedades el RP ideal debe poseer toxicidad mínima o nula, preservar la eficacia antitumoral de la radioterapia, tener un amplio espectro de protección sobre tejidos sanos y órganos, tener un amplio rango de compatibilidad con otros fármacos.

Aminoácidos y otros compuestos

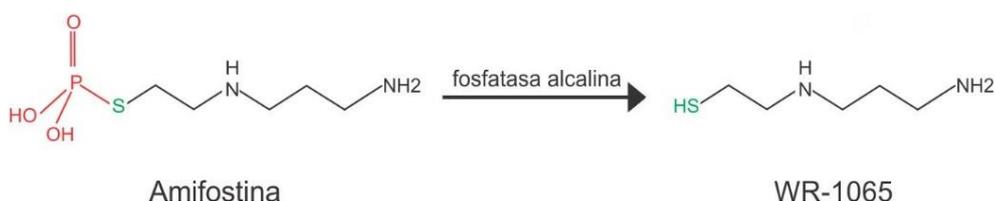
Desde hace tiempo los aminoácidos han sido estudiados como posibles RP, teniendo un papel importante la cisteína y las formas descarboxiladas de la cisteína (precursor del glutatión). Muchos compuestos similares con grupos sulfhidrilos (SH) han sido testeados y resultaron ser efectivos como radioprotectores. Los mecanismos implicados en la radioprotección mediada por SH incluyen principalmente:

1. Secuestro de radicales libres.
2. Donación de átomos de hidrogeno para favorecer la reparación de sitios de ADN dañados.

A pesar de que la Cisteína es un RP, es tóxico e induce náuseas y vómitos a las dosis requeridas para radioprotección. Así, en 1959, luego de la Segunda Guerra Mundial y dado los eventos ocurridos en Nagasaki e Hiroshima, la Armada de los Estados Unidos inició un programa para identificar y sintetizar drogas que fueran capaces de conferir protección a los individuos sometidos a radiación, pero sin la toxicidad de la cisteína. Uno de los primeros hallazgos fue que la toxicidad de los compuestos se reducía, si el grupo SH se cubría con un grupo fosfato. Una vez en la célula, el grupo fosfato es liberado y el SH comienza a secuestrar radicales libres (Figura 5.7). Uno de los compuestos más importantes desarrollados por este programa fue la amifostina, única droga radioprotectora aprobada por la FDA (U.S. Food and Drug Administration) para su utilización en radioterapia. El resto de los compuestos aprobados por este organismo como contramedidas para la radiación, se clasifican como radiomitigadores. La diferencia se basa en que los radioprotectores reducen el daño directo causado por la radiación y los radiomitigadores, minimizan la toxicidad después de que se haya administrado la radiación. Por otro lado, si bien el énfasis en el desarrollo de la amifostina se basó en proteger a los tejidos sanos de la muerte

celular causada por la irradiación, esta droga además previene la carcinogénesis radioinducida en células en cultivo y en modelos de ratón. Asimismo, su eficacia fue demostrada para disminuir la xerostomía en pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a radioterapia, sin perjudicar el control tumoral. Se ha propuesto que la amifostina es capaz de estabilizar los sitios de daño en el ADN facilitando una reparación más lenta y libre de error. No obstante, este compuesto posee desventajas tales como limitadas rutas de administración, ventanas de administración estrechas, alto costo y acotada protección de los órganos. Del mismo modo, concedido en rangos de dosis operativas ocasiona efectos secundarios graves como vómitos, náuseas, diarrea, nefro y neurotoxicidad. Para superar estas limitaciones, se están realizando estudios de compuestos de origen natural con el objetivo de identificar agentes nuevos, efectivos y no tóxicos.

Figura 5.7. Activación de amifostina mediada por enzima.



Mecanismos de acción de los radioprotectores

Para analizar los mecanismos de acción de los RP, se deben tener en cuenta los efectos biológicos de las RI, tales como el daño al ADN, la generación de radicales libres y el resultante estrés oxidativo y muerte celular. Por tanto, la actividad radioprotectora involucra principalmente vías bioquímicas, regulando así los genes de reparación del ADN y del daño celular, el secuestro de radicales libres y disminución del estrés oxidativo, la inhibición de la apoptosis permitiendo la repoblación de tejidos dañados. Además, muchos productos también tienen propiedades radiosensibilizantes en células cancerosas. Esta propiedad es una ventaja añadida para su aplicación en radioterapia para pacientes oncológicos.

En relación con lo mencionado previamente en este capítulo, el uso de suplementos dietarios con antioxidantes tiene un rol radioprotector. En tal sentido, se ha demostrado que suplementos de vitamina E mejoran la supervivencia de ratones inoculados intramuscularmente que han sido sometidos a tratamiento radiante, así como también se ha observado en humanos. El selenio, que se encuentra en el ajo, brocoli, granos y legumbres, protege contra la mutagénesis radioinducida *in vitro* e inhibe también su transformación celular. Otros metales sobre los que se está investigando el poder radioprotector son el hierro, el cobre y el cinc.

Por otro lado, la actividad antihemética, antiinflamatoria, inmunomoduladora, estimuladora del sistema hematopoyético y antioxidante son algunos de los mecanismos por los cuales algunos extractos de plantas actúan frente a las radiaciones ionizantes. Compuestos aislados de diferentes extractos como los polifenoles, carotenoides, flavonoides, terpenos, curcumina, quercetina, licopenos, xantinas, melatoninas, entre otros, han sido propuestos como RP. Su capacidad para

proteger contra las radiaciones ionizantes se atribuye principalmente a su habilidad de secuestrar radicales libres. Los flavonoides proveen una protección significativa para evitar las aberraciones cromosómicas y la letalidad en ratones, cuando son administrados a dosis no tóxicas antes de la exposición a la radiación. Su efecto protector ha sido relacionado con su propiedad antioxidante. La isoflavona genisteína, presente en la soja, tiene grandes potencialidades anticarcinogénicas y ha demostrado un efecto radioprotector en ratones inoculados 24 horas antes de su exposición a rayos gamma. La administración de múltiples dosis orales de este compuesto reforzó la protección contra la letalidad inducida por las radiaciones.

En resumen, las principales propiedades de los RP deben ser:

1. **Antioxidante:** Los agentes que tienen la capacidad de prevenir la formación y/o eliminar las especies reactivas inducidas por radiación pueden funcionar como RP. Algunos agentes interfieren con la distribución del oxígeno en los tejidos irradiados mediante la inducción de hipoxia local (Ej: compuestos sulfhidrilos, RSH). Otros promueven el incremento de enzimas antioxidantes y/o el secuestro de radicales libres (Ej: curcumina, apigenina, licopeno, hesperidina, sesamol, resveratrol, glutatión)
2. **Antiinflamatorio:** La RI es indirectamente tóxica al activar una respuesta inmunitaria, y los pacientes que se someten a radioterapia suelen sufrir una inflamación generalizada. Consecuentemente, es importante aliviar los efectos secundarios asociados con la inflamación, y algunos productos naturales y sus ingredientes activos pueden lograrlo a través de la actividad antiinflamatoria (Ej: curcumina, apigenina, licopeno, hesperidina, resveratrol).
3. **Antiapoptótico:** Las RI son capaces de inducir la apoptosis, es decir, que las células dañadas sufren muerte programada. Un agente que inhibe la apoptosis y repara el ADN puede ser un excelente RP. En tal sentido, varios fármacos y compuestos vegetales tienen la capacidad de activar genes antiapoptóticos e inhibir a los proapoptóticos (Ej: fucoicdan, genisteína, hesperidina).
4. **Favorecer la reparación del ADN y la recuperación celular:** Algunos RP son capaces de estabilizar las macromoléculas protegiéndolas de la radiación (Ej: espermidina y espermina pueden interactuar con el ADN). Por otro lado, ciertos compuestos pueden regular vías moleculares y mecanismos de reparación que se activan por el daño del ADN radioinducido. Las enzimas que sintetizan precursores de ADN, como la ribonucleótido reductasa, también tienen un papel importante en su reparación, dado que concentraciones celulares más altas de estas moléculas indispensables, pueden crear un entorno celular radioprotector. Por lo tanto, los fármacos y productos químicos que estimulan la actividad de las enzimas sintetizadoras de precursores pueden funcionar como RP. Entre los compuestos que favorecen la reparación del daño en el ADN se pueden destacar la curcumina, la apigenina, el sesamol, el resveratrol y el glutatión.
5. **Regenerar células hematopoyéticas:** La RI daña los tejidos hematopoyéticos y disminuye las plaquetas y el recuento de neutrófilos. Esta reducción puede provocar anemia, hemorragia, septicemia, trombocitopenia e incluso la muerte. Para proteger las células del daño inducido por RI, las células progenitoras hematopoyéticas deben estimularse, mantenerse

y proliferar desde la médula ósea hasta la sangre periférica. En general, se sabe que la mayoría de los polisacáridos derivados de plantas, ejercen una eficacia radioprotectora al actuar como inmunoestimulantes, induciendo la proliferación de células hematopoyéticas y la secreción de varias citosinas (Ej: fucoidan, acemannan, β -glucano ginsan). Existen otros agentes naturales, que no son polisacáridos sino compuestos fenólicos, que poseen similares propiedades (Ej: sesamol, genisteína, hesperidina).

En la práctica clínica, los radioprotectores no se utilizan tan ampliamente como se esperaría, esto se debe a que sus ventajas se pueden ver ensombrecidas por argumentos relacionados con la posible protección del tumor y la pérdida de la ganancia terapéutica. Por tanto, es necesario robustecer las investigaciones en este área para obtener un conocimiento más acabado de los posibles efectos de las sustancias propuestas como posibles RP.

Figura 5.8. Propiedades de los RP.



Referencias

- Benderitter M, Vincent-Genod L, Pouget JP, Voisin P. (2003). The cell membrane as a biosensor of oxidative stress induced by radiation exposure: a multiparameter investigation. *Radiat Res.* 159(4):471-83.
- Corre I, Niaudet C, Paris F. (2010). Plasma membrane signaling induced by ionizing radiation. *Mutat Res.* 704(1-3):61-7.

- Dowlath MJH, Karuppannan SK, Sinha P, Dowlath NS, Arunachalam KD, Ravindran B, Chang SW, Nguyen-Tri P, Nguyen DD. (2021). Effects of radiation and role of plants in radioprotection: A critical review, *Science of The Total Environment*. 779: 146431
- Haimovitz-Friedman A, Kan CC, Ehleiter D, Persaud RS, McLoughlin M, Fuks Z, Kolesnick RN. (1994). Ionizing radiation acts on cellular membranes to generate ceramide and initiate apoptosis. *J Exp Med*. 180(2):525-35.
- Halliwell B, Gutteridge J. (2000). *Free radicals in Biology and Medicine*. Tercera edición. Oxford, New York.
- Halliwell B. (1997). Antioxidants: The Basis – What they are and how to evaluate them. En: *Antioxidants in deeseases: Mecanismos and therapy*. SIES. Academic Press. California.
- Juan JY, Zhu JQ, Zhao CZ, Kang Q, Zhang X, Suo K, Cao N, Hao L, Lu J. (2021). Potential of natural products as radioprotectors and radiosensitizers: Opportunities and challenges. *Food Funct*. 12: 5204-5218
- Larkins N. (1999). Free radical biology and pathology. *J Equine Vet Sci*. 19: 84-89.
- Lehnert S. (2007). *Biomolecular Action of Ionizing Radiation* (1st ed.). CRC Press.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 4(8), 118-126.
- Morgan M. (2012). Estresse oxidativa e antioxidantes. En: *Radicaís libres no proceso saude – doenca da bancada a clinica*. Curitiba- PR (Brasil).
- Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. (2018). Pharmacology of natural radioprotectors. *Arch. Pharm. Res*. 41: 1033-1050.
- Olinescu R, Kummerow F. (2001). Fibirnogen is an efficient antioxidant. *J Nutr Biochem*. 12: 162- 169.
- Poole LB and Nelson KJ. (2008). Discovering mechanisms of signaling-mediated cysteine oxidation. *Curr Opin Chem Biol* 12: 18-24.
- Power S, Lennon S. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*. 58: 1025-1033.
- Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 266: 4244-4250.
- Rivera Sánchez E. (2010). Radioprotectores. *Radiobiología*. 10: 225-229
- Saurin AT, Neubert H, Brennan JP, Eaton P. (2004). Widespread sulfenic acid formation in tissues in response to hydrogen peroxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 17982-17987.
- Stark G. (1991). The effect of ionizing radiation on lipid membranes. *Biochim Biophys Acta* 1071: 103-122.
- Ugartondo V. (2009). Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estres oxidativo en modelos celulares. *Universitat de Barcelona. Facultad de farmacia*.
- Wani R, Qian J, Yin L, Bechtold E, King SB, Poole LB, Paek E, Tsang AW, Furdui CM. (2011). Isoform-specific regulation of Akt by PDGF-induced reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108: 10550-10555.

- Wong-ekkabut J, Xu Z, Triampo W, Tang IM, Peter Tieleman D, Monticelli L. (2007). Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study. *Biophys J.* 93: 4225-4236.
- Hall, EJ and Giaccia AJ. (2012). Radioprotectors. Hall, EJ and Giaccia AJ. *Radiobiology for the Radiologist*. Seventh Edition. pp 129 - 134. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins.