

BR8920801

ISSN 0101-3084



**CNEN/SP**

---

**ipen** *Instituto de Pesquisas  
Energéticas e Nucleares*

ESTADO ACTUAL Y POSIBILIDADES DE APLICACIONES  
BIOMÉDICAS DE LAS RADIACIONES EN EL  
IPEN – CNEN/SÃO PAULO – BRASIL

Nélida Lucia del Mastro

PUBLICAÇÃO IPEN 250

FEVEREIRO/1989

SÃO PAULO

**ESTADO ACTUAL Y POSIBILIDADES DE APLICACIONES  
BIOMÉDICAS DE LAS RADIACIONES EN EL  
IPEN – CNEN / SÃO PAULO – BRASIL**

**Nélida Lucia del Mastro**

**DEPARTAMENTO DE APLICAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CNEN/SP  
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
SÃO PAULO – BRASIL**

**Série PUBLICAÇÃO IPEN**

**INIS Categories and Descriptors**

**C40.00**

**C10.00**

**C60.00**

**D23.00**

**BRAZILIAN CNEN  
RADIATIONS  
RADIOISOTOPES  
USES**

---

**IPEN - Doc - 3258**

Aprovado para publicação em 19/01/89.

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do(s) autor(es).

ESTADO ACTUAL Y POSIBILIDADES DE APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LAS RADIA -  
CIONES EN EL IPEN-CNEN/SÃO PAULO - BRASIL

Nélida Lucia del Mastro

RESUMEN

Las aplicaciones de las radiaciones en el área de las ciencias biológicas en nuestro instituto tiene por objetivo, primeramente, preservar y mejorar la salud a través del desarrollo de investigaciones dirigidas para el diagnóstico y la terapéutica. La biotecnología, en sus múltiples aspectos posibilita también aplicaciones clásicas y nuevas de gran importancia para la comunidad. Las aplicaciones biomédicas de las radiaciones, realizadas particularmente en el IPEN<sup>\*</sup>, son resumidas brevemente.

STATUS AND POSSIBILITIES FOR BIOMEDICAL RADIATION APPLICATIONS AT THE  
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES/SÃO PAULO - BRAZIL

ABSTRACT

Radiation applications in the area of biological sciences at our institution aim in the first place at the preservation and improvement of health through the development of researches directed to diagnosis and therapeutics. The multiple aspects of biotechnology turn possible also classical and new applications of great importance for the community. The biomedical radiation applications performed particularly at the IPEN are summarized.

\*Comunicación presentada en el Seminario para America Latina sobre Aplicaciones Industriales de las radiaciones patrocinado por el OIEA, Quito, Ecuador, 3 al 6 de octubre de 1988.

## ESTADO ACTUAL Y POSIBILIDADES DE APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LAS RADIA - CIONES EN EL IPEN-CNEN/SÃO PAULO - BRASIL

Las aplicaciones de las radiaciones en el área de las ciencias biológicas en nuestra institución, tienen por objetivo en primer término, preservar y mejorar la salud a través del desarrollo de investigaciones dirigidas para diagnóstico y terapéutica. Gracias a la disponibilidad de reactor nuclear, ciclotrón, acelerador de electrones y fuentes de radiación gamma, así como a la producción de radioisótopos, sustancias marcadas y reactivos para radioensayos, actividades ampliamente reconocidas de nuestra institución en el ámbito de América Latina, un gran número de usos son posibles. La biotecnología, en sus múltiples aspectos, posibilita además otras aplicaciones de enorme importancia para la comunidad, como el aprovechamiento de restos agrícolas como bagazo de caña de azúcar y aserrín para conversión de biomasa y el uso de células y enzimas inmovilizadas para procesos fermentativos continuos.

Muchas de las experiencias que realizamos sobre efectos de las radiaciones en animales, producen inmunodepresión en ellos. Así, es utilizada frecuentemente ración animal y aserrín esterilizado por radiación electrónica para protegerlos de infecciones.

El uso de la radiación gamma para atenuación de venenos, es una de las aplicaciones promisorias que viene tomando grande impulso en los últimos años y en lo cual estamos empeñados dada la importancia que revisten los accidentes con ofidios en nuestro continente (Figs 1, 2, 3 y 4).

El Brasil viene emprendiendo esfuerzos para la utilización de biomasas de diferentes orígenes, que presentan gran potencial energético y pueden colaborar en la substitución de fuentes de energía importadas (Castagnet, 1987). Los procesos industriales de por ejemplo, producción de alcohol por fermentación, generan subproductos de poco valor comercial. Así, se torna necesario el máximo empeño en el aprovechamiento de esas biomasas. La exposición de materiales lignocelulósicos a la irradiación por haces de electrones, causa alteraciones en la estructura polimérica tornándolos más adecuados para su utilización posterior. Restos de madera o de bagazo de caña mostraron mejorar su susceptibilidad a enzimas cuando el material es sometido a irradiación (Fig. 5). En el ca

so específico de aplicación de este proceso para uso como ración animal, los materiales lignocelulósicos tratados con haz de electrones ( $2 \times 10^5$  Gy) y amoníaco gaseoso anhidro, mostraron un buen desempeño en términos de biodigestibilidad in vitro (Tablas I y II). Actualmente, están siendo efectuados experimentos de biodigestibilidad in vivo en bovinos.

La metodología adecuada para la inmovilización de biocompuestos y síntesis de biomateriales por radiopolimerización con radiación gamma o haz de electrones está siendo desarrollada. Los resultados obtenidos con la inmovilización de celulasa, celobiasa y levaduras sobre soportes poliméricos se mostraron auspiciosos (Fig. 6, Tabla III). Siendo la fermentación un proceso altamente radioresistente (Fig. 7, Tabla IV), la aplicación industrial de levaduras radioinmovilizadas se vislumbra promisorias. Los primeros ensayos de biocompatibilidad por técnicas de implante en conejos (Camillo et al, 1987), hacen suponer un gran campo de aplicación de sustancias polimerizadas por radiación. Además del uso in vitro para diagnóstico, la Medicina podrá beneficiarse con materiales que incluyen instrumentos o aparatos invasivos (e. g. catéteres), instrumentos o aparatos implantados (e. g. marcapasos), tejidos sustitutos para implantes internos, externos y soportes para liberación lenta en el organismo de drogas, hormonas e medicamentos.

Otras aplicaciones en el ámbito de las ciencias biológicas se relacionan con respuestas biológicas bien conocidas. Tal es el caso de inmunodepresión inducida por la radiación, que es un efecto nocivo en el caso de exposiciones accidentales a la radiación o un efecto colateral en radioterapia. Sin embargo, la inmunodepresión es necesaria en casos por ejemplo, de transplantes de órganos o para estudios en parasitología (Tabla V).

Cualquier sistema biológico en el cual pueda ser cuantificada la respuesta a la radiación, puede ser utilizado para establecer la competencia radioprotectora o radiosensibilizadora de determinado producto. El interés por sustancias radiomodificadoras trasciende el área puramente biomédica e tiene importancia también desde el punto de vista estratégico militar. Nuestro instituto realiza estudios in vitro (Fig. 8) e in vivo (Figs 9 y 10) para establecer la capacidad radiomodificadora fundamentalmente de productos naturales endógenos o provenientes de extractos de plantas.

La captación y eliminación de radioisótopos por seres vivos en también materia de estudio. Casos de contaminaciones externas o internas de seres humanos muestran claramente la importancia de realizar estudios no solo en animales de laboratorio (Fig 11) como también en el medio ambiente.

Entre los posibles efectos nocivos que las radiaciones son capaces de producir, son de interés primordial los relacionados con el desarrollo embrionario. Algunos efectos de la radiación gamma en particular sobre embriones de caracol, están siendo estudiados actualmente (Fig. 12). La metodología de recuento de aberraciones cromosómicas de linfocitos está siendo utilizada como dosimetría biológica para estimar la dosis absorbida por personas expuestas accidentalmente a la radiación.

Nuestro Instituto elaboró un Programa Trienal (1988-1989-1990) de aplicaciones de técnicas nucleares que contempla los temas descritos en el área de Biotecnología y en la que están incluidos también la utilización del reactor nuclear para fines de terapia del cancer, por la destrucción específica de tumores, mediante la captura neutrónica por compuestos conteniendo  $^{10}\text{B}$  (fig. 13). Muchos de estos proyectos, que actualmente se encuentran en fase de ensayos de laboratorio, precisarán para su implantación de la colaboración, especialmente financiera, de diversos organismos para poder atender al interés primordial de nuestra comunidad.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. MURATA, Y. & ROGERO, J.R. Effects of gamma radiation on Crotalus durissus terrificus venom. Arq. Biol. Technol., 30 (1):196, 1987.
02. MURATA, Y. & ROGERO, J.R. Effects of gamma radiation on Crotalus durissus terrificus venom. Antigenic aspects. Resumo da XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica. Arq. Biol. Technol. 31, 1988.
03. COSTA, T.A. & ROGERO, J.R. Efeitos dos produtos de radiólise da água na Crotamina. In: ACIESP - Associação de Comércio e Indú

- tria do Estado de São Paulo. Toxinas protéicas: anais do 12º Simpósio anual da ACIESP - Associação de Comércio e Indústria realizado em Campinas, SP, 1-5 março, 1988. p. 156-162.
04. MURATA, Y. & ROGERO, J.R. Análise cromatográfica por exclusão molecular em amostras de veneno de cascavel irradiadas com  $^{60}\text{Co}$ . In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENERGIA NUCLEAR. Energia Nuclear : anais do 2º Congresso Geral de Energia Nuclear, realizado no Rio de Janeiro, RJ, 24-29 abril, 1988. Rio de Janeiro, 1988. p. 273-279.
05. CASTAGNET, A.C. Biomass conversion through radiation immobilization of enzymes and microorganisms and pre-irradiation techniques at IPEN-CNEN/São Paulo. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Use of radiation technology for immobilization of bioactive material: proceeding of 3rd Research Coordination Meeting of the use of radiation technology for immobilization of bioactive materials, Beijing, China, 15-17 june, 1967 - Vienna
06. ROGERO, J.R.; DEL MASTRO GARCIA AGUDO, N.L.; HIGA, O.; CASTAGNET, A.C. Influence of electron beam irradiation doses on the enzymatic hydrolysis of cellulosic materials. Arq. Biol. Tecnol. 27 (2): 168, 1984.
07. HIGA, O.Z.; ROGERO, J.R.; DEL MASTRO, N.L.; GENNARI, S.M.; OKAZAKI, K.; CASTAGNET, A.C. Radiation and other pretreatment effects on enzymatic hydrolysis of cellulosic materials. In: ORGANIZING COMMITTEE OF THE VI JAPAN-BRAZIL SYMPOSIUM ON SCIENCE AND TECHNOLOGY. Science and technology: 5º Japan-Brazil Symposium on Science and Technology held in Tokyo, Japan, 27-29 October, 1986. p. 83-86.
08. GENNARI, S.M.; OKAZAKI, K.; NAKAHIRA, H.U.; CASTAGNET, A.C. Studies of enzymatic hydrolysis on sugarcane bagasse subjected to physical and chemical. Arq. Biol. Tecnol. 27 (7): 168, 1984.

09. HIGA, O.; DEL MASTRO G.A., N.L.; ROGERO, J.R. CASTAGNET, A.C. Elec-  
tron beam irradiation of wood: Effects of enzymatic hydrolysis.  
Arq. Biol. Tecnol. 27 (2): 169, 1984.
10. DEL MASTRO, N.L.; GENNARI, S.M.; CASTAGNET, A.C. Efeito de amônia  
e irradiação com feixe de elétrons sobre materiais lignocelulósi-  
cos. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENERGIA NUCLEAR. Energia Nu-  
clear: anais do 1º Congresso Geral de Energia Nuclear realizado  
no Rio de Janeiro, RJ, 17-20 de março, 1986. p. 157-160.
11. GENNARI, S.M.; DEL MASTRO, G.A., N.L.; CASTAGNET, A.C. Studies of  
enzymatic hydrolysis on lignocellulosic materials subjected to  
irradiation and NH<sub>3</sub> treatment. Arq. Biol. Tecnol. 28 (1) 76 ,  
1985.
12. HIGA, O & DEL MASTRO G.A., N.L. Cellulase immobilization by radia-  
tion-induced polymerization. Arq. Biol. Tecnol. 28 (1): 79 ,  
1985.
13. HIGA, O.; DEL MASTRO, N.L.; CASTAGNET, A.C. Immobilization of cel-  
lulase and cellobiase by radiation-induced polymerization. Ra-  
diat. Phys. Chem. 27 (4): 311-316, 1986.
14. DEL MASTRO, N.L. & HIGA, O.Z. Yeast immobilization on radiopolyme-  
rized supports. Arq. Biol. Tecnol. 29 (1): 71, 1986.
15. DEL MASTRO, N.L.; GIMENES, J.J.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. Influence  
of gamma radiation on ethanol production from yeast. Brazilian  
J. Med. Biol. Res. (1988) 21:
16. CAMILLO, M.A.P.; MURAMOTO, E.; DEL MASTRO, N.L. Bioreactivity of  
polymers prepared by irradiation technology. Arq. Biol. Tecnol  
30 (1): 138, 1987.
17. BERNARDES, D.L.; DEL MASTRO, N.L. Efeito da radiação gama nas pro-  
teínas do cristalino bovino "in vitro". In: ASSOCIAÇÃO BRASILEI

RA DE ENERGIA NUCLEAR. Energia nuclear: anais do 2º Congresso Geral de Energia Nuclear realizado no Rio de Janeiro, RJ, 24-29 de abril, 1988. Rio de Janeiro, 1988. p. 295-302.

18. KIKUCHI, O.K. & DEL MASTRO, N.L. Incorporação e eliminação de Cé-134 pelo caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). (Publicação IPEN 160) IPEN-CNEN/SÃO PAULO, julho 1988.
19. OKAZAKI, K.; KAWANO, T. Estudo citogenético de embriões irradiados com radiação gama de Co-60 em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Ciência e Cultura, 39 (7): 740, 1987.

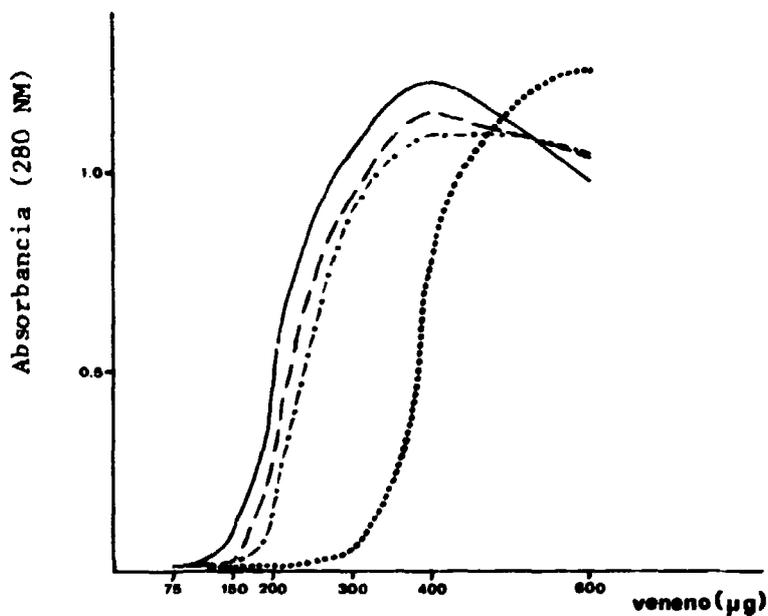


Fig. 1. Atenuación de veneno total de cascabel por radiación de  $^{60}\text{Co}$ . Perfil de inmunoprecipitación: (—) veneno bruto; (----) irradiado con 500 Gy; (-.-.-) 750 Gy; (·····) 2000 Gy (Murata & Rogero, 1987). Es evidente la disminución del reconocimiento del anticuerpo por el antígeno a 2000 Gy.

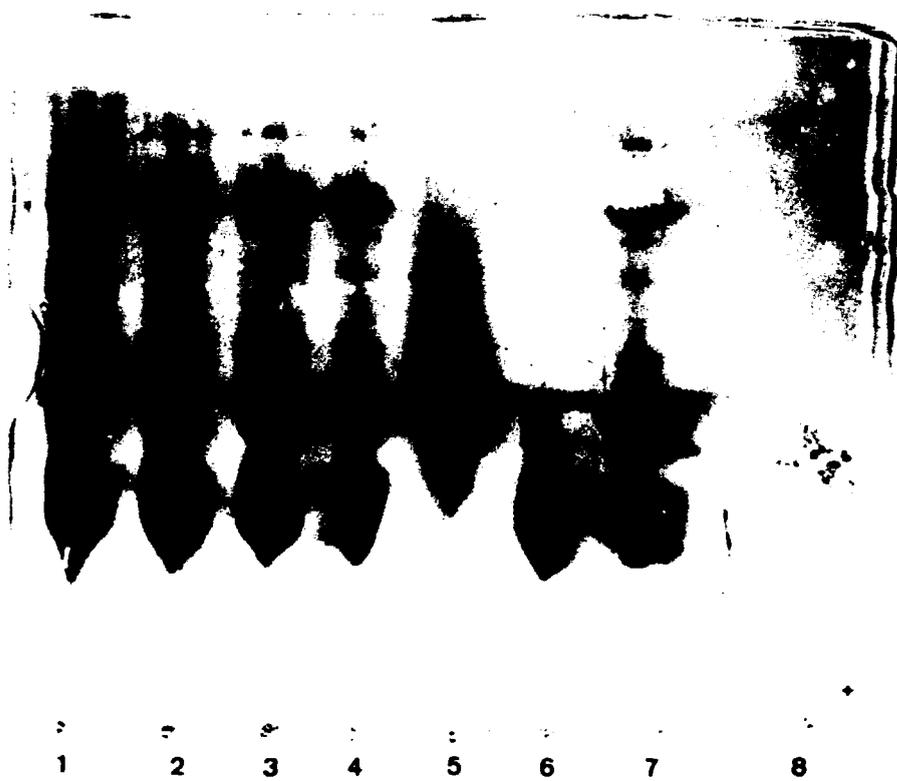


Fig. 2. Atenuación de veneno total de cascabel por radiación de  $^{60}\text{Co}$ . Perfil electroforético en poliacrilamida. 1) Veneno total irradiado con 1000 Gy; 2) 500 Gy; 3) 250 Gy; 4) 100 Gy; 5) crotoxina; 6) crotamina, 7) veneno total nativo; 8) blanco (Murata & Rogero, 1988). Es posible notar el apareamiento de productos de diferentes pesos moleculares en función de la dosis de radiación.

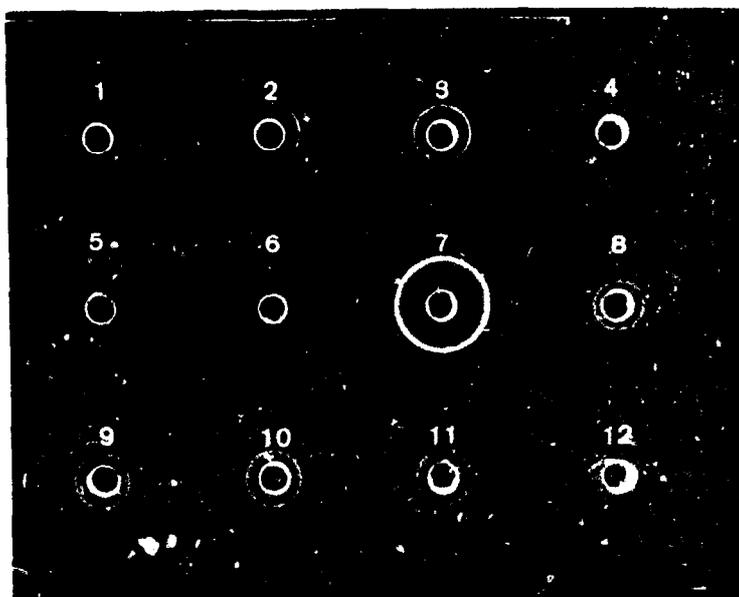


Fig. 3. Atenuación de fracción de veneno de cacabel por radiación de  $^{60}\text{Co}$ . Inmunodifusión radial simple de crotamina irradiada con 2000 Gy en ausencia de  $\text{O}_2$ , en presencia de radiomodificadores: 1)  $2 \times 10^{-1}$  M cisteína; 2)  $2 \times 10^{-2}$  M cis; 3)  $2 \times 10^{-3}$  M cis; 4)  $2 \times 10^{-4}$  M cis; 5)  $2 \times 10^{-5}$  M cis; 6)  $2 \times 10^{-6}$  M cis; 7) crotamina nativa; 8) 1 M  $\text{NaNO}_3$ ; 9)  $10^{-1}$  M  $\text{NaNO}_3$ ; 10)  $10^{-2}$  M  $\text{NaNO}_3$ ; 11)  $10^{-3}$  M  $\text{NaNO}_3$ ; 12)  $10^{-4}$  M  $\text{NaNO}_3$  (Costa & Rogero, 1988). La presencia de radioprotectores en concentraciones adecuadas preserva la respuesta inmunológica.



**F'g. 4.** Atenuación de fracción de veneno de cascabel por radiación de  $^{60}\text{Co}$ . Reacción de immunodifusión doble (Ouchterlony): 1) suero anti crotálico; 2) veneno bruto; 3) crotamina nativa; 4) crotamina irradiada con 100 Gy ; 5) con 2000 Gy; 6) con 5000 Gy (Costa & Rogero, 1988). La irradiación con dosis altas disminuye sensiblemente la respuesta immunológica.

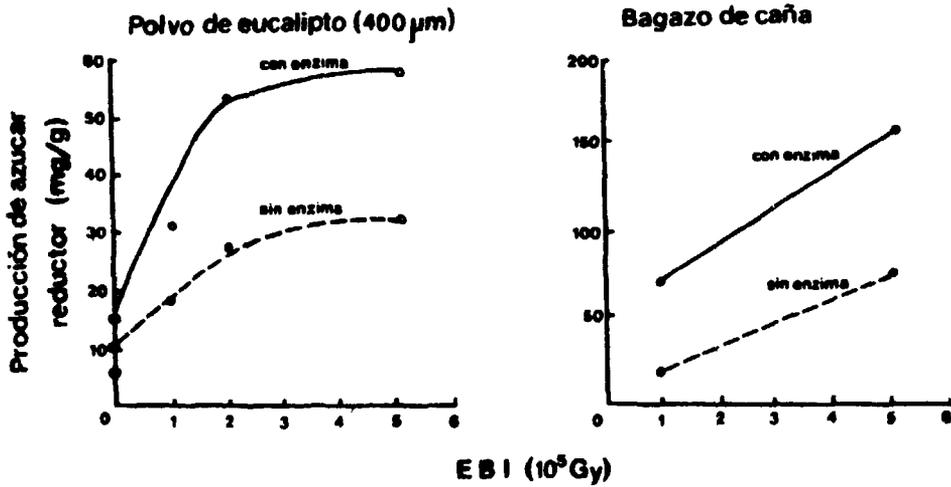


Fig. 5. Aumento de la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática por efecto de radiación con haz de electrones (EBI). Concentración de celulasa: 36 mg/ml (Rogeró et al. 1984, Higa et al. 1986; Gennari et al. 1984, Higa et al. 1984). La conjunción de radiación y acción enzimática permite duplicar el rendimiento en azúcar en ambos materiales celulósicos.

Componente	Tratamiento			
	Nativo	2 x 10 <sup>5</sup> Gy	NH <sub>3</sub>	2 X 10 <sup>5</sup> Gy+NH <sub>3</sub>
ADF	59,5	57,8	59,0	54,9
NDF	88,6	74,6	89,3	71,7
CELULOSA	38,8	37,2	38,9	35,0
MATERIAL MINERAL	7,0	5,4	5,8	7,4
LIGNINA	15,2	15,4	15,4	15,0
PROTEÍNA	2,7	2,4	4,0	7,0

**Tabla I.** Aprovechamiento de bagazo de caña como complemento de ración animal. Análisis bromatológicos de muestras irradiadas (EBI) y tratadas con NH<sub>3</sub>, expresadas como % de peso seco (del Mastro et al., 1986). Es notorio el incremento en proteínas en las muestras irradiadas y tratadas con NH<sub>3</sub>.

Dosis (X 10 <sup>5</sup> Gy)	% Digestibilidad in Vitro			
	Eucalipto		Bagazo	
	Nativo	NH <sub>3</sub>	Nativo	NH <sub>3</sub>
0	10,2	9,4	39,3	39,7
1	11,2	9,9	--	--
2	16,2	16,2	47,1	50,1
5	11,3	32,0	--	--

Tabla II. Aprovechamiento de materiales celulósicos como ración animal. Digestibilidad in vitro de muestras irradiadas (EBI) y tratadas con NH<sub>3</sub> (Gennari et al., 1985). Con dosis de 2 X 10<sup>5</sup> Gy y 5 X 10<sup>5</sup> Gy es posible aumentar la digestibilidad del bagazo de caña y del aserrín de madera respectivamente.

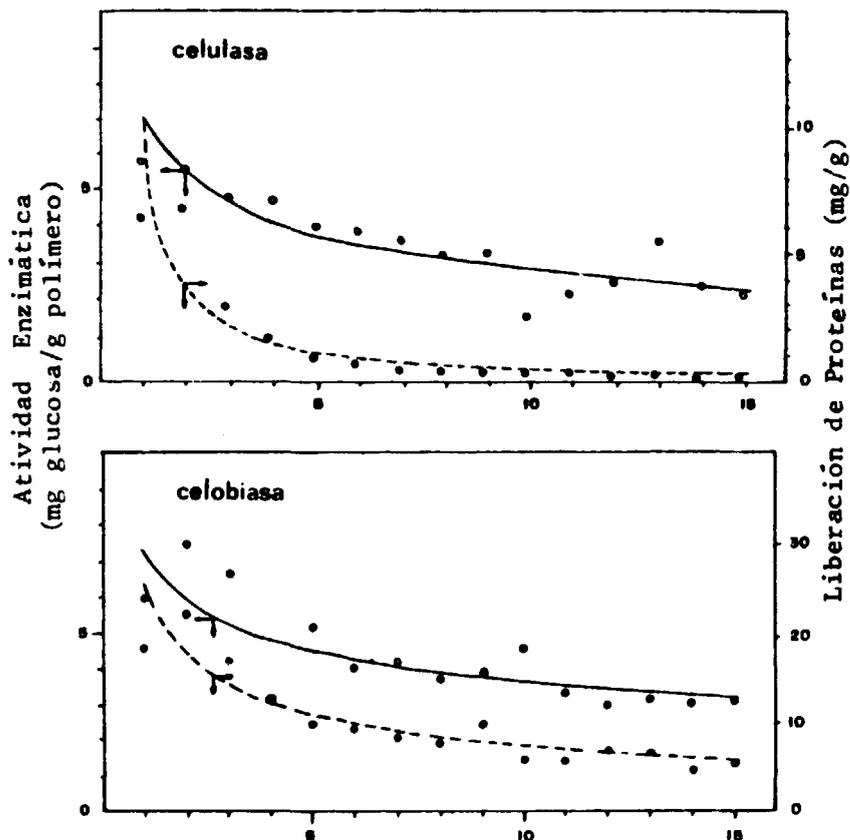


Fig. 6. Inmobilización de enzimas por radiopolimerización con  $^{60}\text{Co}$  (- 78°C,  $10^4$  Gy). Actividad enzimática y proteínas liberadas en función del número de veces repetidas de reacción; HEMA: 60%; ENZIMA: 2%, substratos 1% CMC y salicina, respectivamente (Higa et al., 1985, Higa et al. 1986). La radiopolimerización permite una liberación lenta de las enzimas.

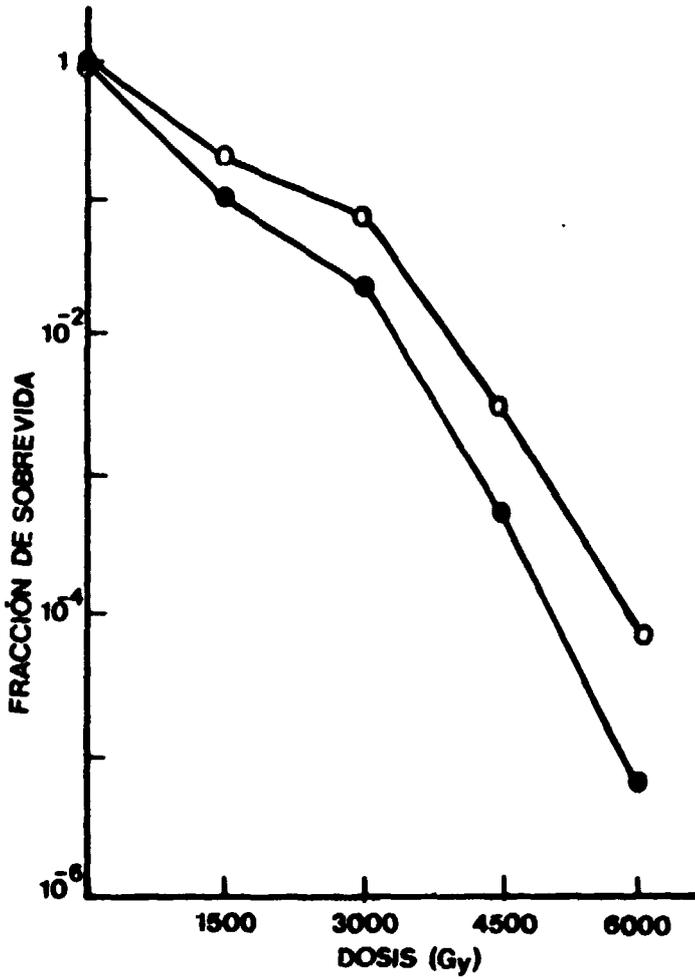


Fig. 7. Radiosensibilidad de levaduras a radiación de  $^{60}\text{Co}$  (20 Gy/min) en NaCl 0,85%. (o o), ce pa I; (o o) cepa II (del Mastro et al, 1988). La radiación afecta las células de levaduras productoras de alcohol de acuerdo a su radio sensibilidad intrínseca.

Intervalo (h)	Producción de Alcohol (g/l/g Polímero)	
	30% HEA	50% HEA
24	4,8	6,0
48	5,4	5,9
76	7,0	7,7
144	6,7	6,0
168	5,4	6,0

Tabla III. Radioinmovilización de levaduras por radiación de  $^{60}\text{Co}$  (500 Gy), sobre soportes plásticos (HEA). Capacidad fermentativa de las levaduras inmovilizadas a diferentes intervalos después de su inmovilización (del Mastro & Higa, 1986). La producción de etanol se mantiene constante después de 7 días de la irradiación.

Dosis Acumulada (Gy)	CEPA I (G Etanol l <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	CEPA II (G Etanol l <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
0	1,29 ± 0,05	1,24 ± 0,08
1500	1,17 ± 0,04	1,14 ± 0,06
3000	1,15 ± 0,01	1,12 ± 0,12
4500	1,18 ± 0,03	0,95 ± 0,14
6000	1,18 ± 0,03	0,72 ± 0,04

**Tabla IV.** Efecto de la radiación gama sobre la producción de etanol por levaduras (del Mastro et al., 1988). El proceso fermentativo se presenta como altamente radioresistente.

Recuento de Leucocitos (Nº Células/mm<sup>3</sup>)

Día Rata	3º	4º	6º	7º	8º	9º
Control <sub>1</sub>	13.600	9.350	17.500	49.600	10.050	12.600
Control <sub>2</sub>	13.450	14.700	25.300	28.700	18.150	17.000
Irradiada <sub>1</sub>	6.350	2.050	1.950	8.750	2.850	2.900
Irradiada <sub>2</sub>	1.650	1.850	8.750	5.600	7.250	2.800
Irradiada <sub>3</sub>	2.900	450	4.300	8.450	3.000	5.200
Irradiada <sub>4</sub>	17.350	6.450	4.560	4.000	3.100	1.700

Tabla V. Inmunodepresión producida por irradiación de <sup>60</sup>Co de cuerpo entero en ratas wistar (4,5 Gy/0,8 min). Es evidente la radiosensibilidad acentuada de los glóbulos blancos.

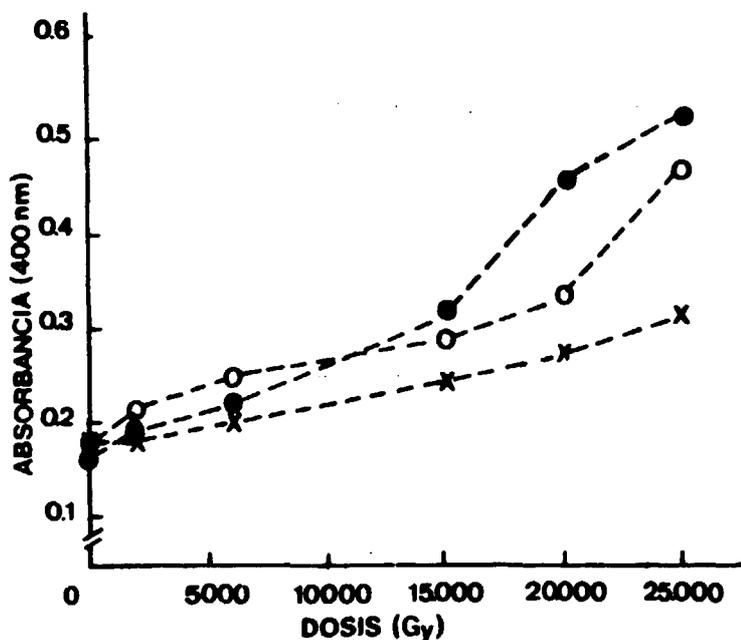


Fig. 8. Sistema in vitro de soluciones de proteínas de cristalino bovino para determinación de radio sensibilidad frente a  $^{60}\text{Co}$  (1000 Gy/H) (o  $\emptyset$  control irradiado; (o  $\emptyset$  irradiado en presencia de N-etilmaleimida; (x  $\times$ ) irradiado en presencia de N-etilmaleimida + cisteína (Bernardes & del Mastro, 1988). Es posible verificar la capacidad radioprotectora de la cisteína.

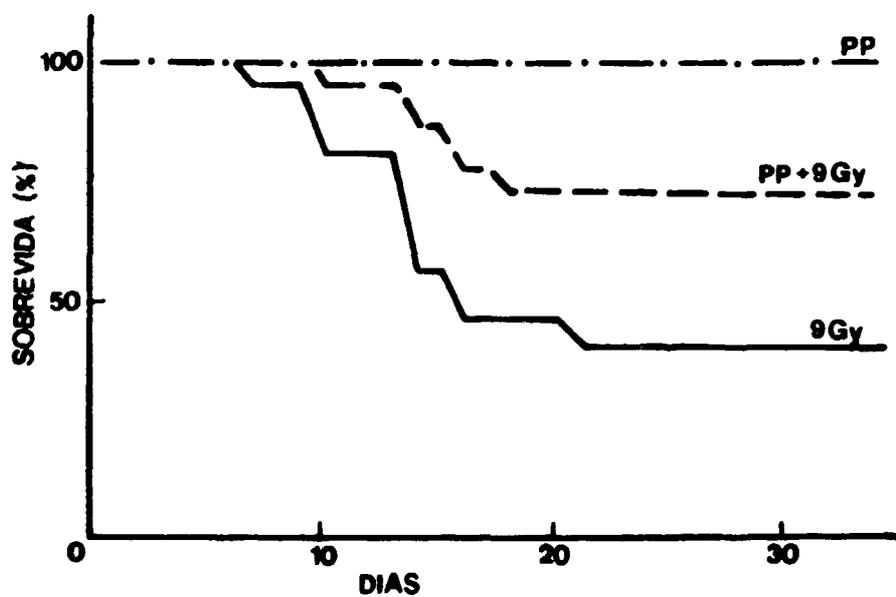


Fig. 9. Radioprotección frente a la radiación de  $^{60}\text{Co}$  (9 Gy, ~5 Gy/min) de ratones inyectados previamente con proteosa-peptona (mg/ml), medida por el aumento en el número de sobrevivientes a los 30 días después de la irradiación.

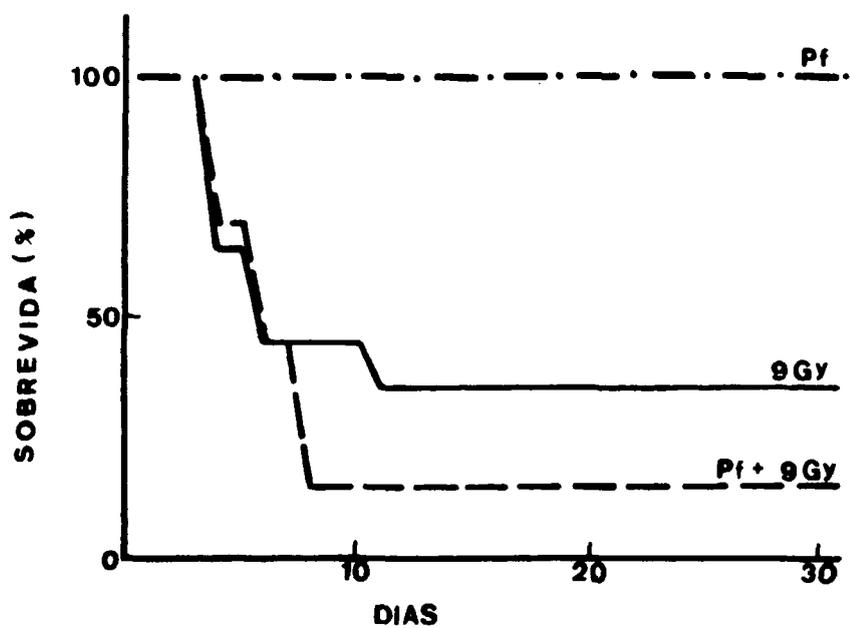


Fig. 10. Radiosensibilización frente a la radiación de  $^{60}\text{Co}$  (9 Gy, -5Gy/min) de ratones inyectados previamente con extracto de Pfaffia Paniculata, medida por el número de sobrevivientes a los 30 días después de la irradiación.

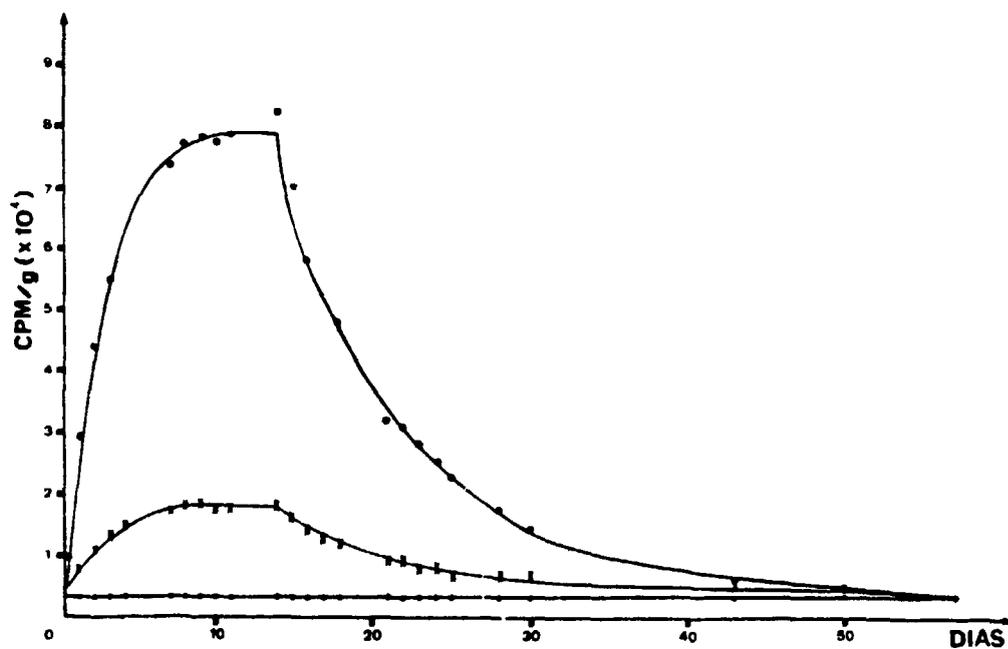


Fig. 11. Captación Y eliminación de  $^{134}\text{Cs}$  en caracoles de agua dulce Biomphalaria glabrata (Kikuchi & del Mastro, 1988). Alrededor del 10º día es alcanzado un "plateau" en la incorporación del radioisótopo para ambas concentraciones utilizadas.

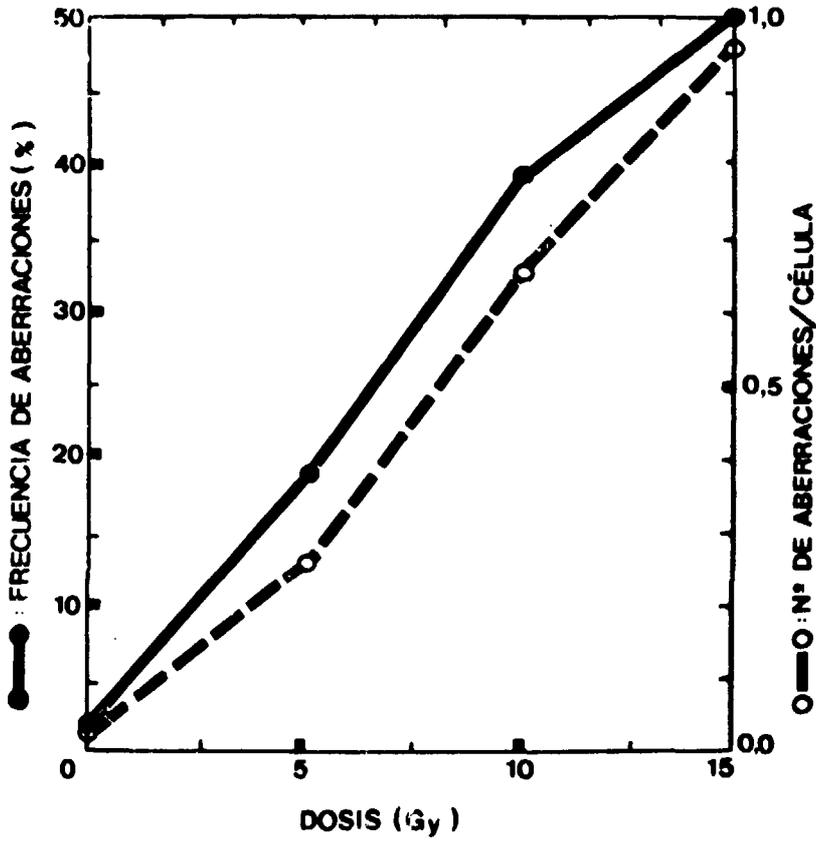


Fig. 12. Frecuencia de aberraciones cromosómicas y nº de aberraciones por célula en función de la dosis de radiación de  $^{60}\text{Co}$  en embriones de caracol, estadio de blástula (Okazaki & Kawano, 1987). La estimación de las aberraciones es utilizada como método de dosimetría biológica.



Fig. 13. Terapia por captura de neutrones con compuestos con  $^{10}\text{B}$ . Radiografía por neutrones de ratón inyectado con  $^{10}\text{B}$  - mercaptoborano ( $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ ) 18 horas antes para estudiar biodistribución del compuesto.