

---

## LA TEORIA DE LA MUTACION SOMATICA EN RELACION CON EL ENVEJECIMIENTO

---

RODOLFO FÉLIX E.  
Departamento de Radiobiología.  
Instituto Nacional de Energía Nuclear.

En el presente estado del conocimiento, el progreso de las ciencias biológicas equivale al progreso de la medicina, ya que esta disciplina, basada frecuentemente en las generalizaciones de la biología, recurre a la información biológica para fundamentar sus adelantos. Puesto que el objetivo de la ciencia hecha por el hombre es el hombre mismo, prácticamente cualquier conocimiento que se obtenga acerca de los seres vivos es relevante al entendimiento de la naturaleza humana y a la conservación de la salud.

El punto de partida lógico es la genética, como ciencia central de la biología, si se considera que el control genético del organismo y de cada una de sus células constituye un aspecto básico para las ciencias naturales, dado que en la actualidad es una generalización válida la que señala que los efectos biológicos de las radiaciones se deben principalmente a los disturbios inducidos en el mecanismo genético. No es un resultado casual, por consiguiente, que el florecimiento de la radiobiología coincide con la consolidación de la genética.

Cuando se originó la genética de las radiaciones en 1927, con los experimentos de Muller, quien demostró que los rayos X pueden alterar al gene, se anticipó la utilidad de la aplicación de las radiaciones ionizantes a la biología, al disponerse de una herramienta que induce variabilidad genética en el grado que se desee. No obstante, dicha herramienta se calificó como relativamente cruda, ya que la acumulación de iones con energía suficiente afecta a cualquier tipo de molécula en su trayectoria. A pesar de esta falta de especificidad, la genética de las radiaciones constituye un campo muy fructífero de investigación en el que colaboran genetistas, radiobiólogos y biofísicos.

Por su misma naturaleza, la genética de las radiaciones implica además de investigación básica, aplicaciones de sus propios principios. Por ejemplo, al considerar que grandes segmentos de la población humana están expuestos, ya sea a rayos X en estudios de diagnóstico, o bien a lluvia radiactiva, se ha puesto mucho interés sobre la investigación del riesgo genético de las poblaciones, resultante de exposición general a agentes mutagénicos tan activos como son las radiaciones ionizantes. Por consiguiente, se justifica el gran esfuerzo realizado para la obtención de datos sobre la tasa de mutación en mamíferos, con la esperanza de extrapolar los resultados a la tasa de mutación correspondiente a *Homo sapiens*.

Una de las especialidades más relevantes de los radiobiólogos, es la exploración de los problemas involucrados en el envejecimiento. El daño derivado de la modificación de la información genética contenida en las células somáticas, se resuelve gradualmente utilizando diversos agentes controlables en experimentos, tales como los efectos mutagénicos de la radiación, en concordancia con los efectos a largo plazo que ocurren en los organismos irradiados, en relación con el envejecimiento.

La manifestación más general de la desorganización orgánica que tiene lugar espontáneamente se define como envejecimiento, que es un proceso irreversible en el tiempo, a su vez acelerado proporcionalmente por la irradiación. El descenso gradual de la eficiencia de los tejidos conduce al fracaso fisiológico de alguno de los órganos vitales, lo que en el terreno de la radiobiología se interpreta como una reparación insuficiente del daño inducido por una dosis de irradiación que culmina con la pérdida de la vida, que es una consecuencia eventual que tiene lugar después de muchas generaciones celulares posteriores a la alteración original. La relación entre los dos eventos: daño inicial y fracaso funcional es objeto de abundante trabajo experimental, ya que el efecto dañino debido a la irradiación, se mantiene latente durante un período que comprende varios años en algunos mamíferos de vida larga, manifestándose finalmente en el acortamiento del período de vida y en la inducción del cáncer, a pesar de que en el lapso transcurrido tienen lugar una proliferación celular ininterrumpida, así como el mantenimiento de una continuidad fisiológica. Con fundamento en estas premisas se postula repetidamente, que el sitio donde se almacena el daño latente es el material genético, causante de la disminución en la eficiencia de las células irradiadas (Ford *et al.*, 1957, Kelly, 1959).

La vida de los animales se acorta cuando son expuestos a la irradiación, obteniéndose curvas sigmoideas al graficar la supervivencia en función del tiempo transcurrido después del tratamiento (Félix *et al.*, 1970a). La

supervivencia media disminuye al aumentar la dosis de exposición. Por otra parte, se ha demostrado una diferencia en la sensibilidad entre líneas diferentes de ratones (Grahn y Hamilton, 1957) y de *Drosophila* (Félix *et al.*, 1967, 1969) que puede referirse a la heterogeneidad de su composición genética.

Aunque se ha demostrado una relación lineal, dentro de ciertos límites entre la dosis de radiación gama y el acortamiento de la vida, la  $DL_{50}$  aumenta con el fraccionamiento de la dosis (Patterson *et al.*, 1952). Con apoyo en los datos anteriores y en otras observaciones complementarias, Blair (1958) formuló una teoría sobre el acortamiento de la vida, debida a la irradiación según los conceptos siguientes. El daño total causado por la irradiación es proporcional a la dosis. Mientras el daño inducido es en parte reparable, el daño irreparable se acumula en razón de la dosis total. Como ambos tipos de daño son aditivos, la muerte ocurre cuando la suma de ambos componentes alcanza un nivel crítico determinado, que tiene a su vez un efecto inversamente proporcional con respecto a la edad de los animales irradiados.

Los demógrafos han reconocido desde hace tiempo que el logaritmo de la mortalidad específica en función de la edad en una población (fuerza de mortalidad) graficado contra la edad en que ocurre la muerte, es aproximadamente lineal después de los primeros años de la infancia. Esta relación, conocida como función de Gompertz se aplica también a las poblaciones irradiadas (Sacher, 1956).

Las observaciones anteriores promovieron el interés para investigar la naturaleza de la relación existente entre el daño producido por la irradiación y el envejecimiento. Es conveniente recordar que aunque el envejecimiento es un proceso universal, su definición implica ciertas dificultades, puesto que lo que se observa estadísticamente en las poblaciones no es el envejecimiento, sino la mortalidad, que es un parámetro que está en una relación directa con el envejecimiento. Las teorías sobre el acortamiento de la vida por la irradiación, han recibido apoyo en numerosos datos experimentales demostrativos de la similitud entre el daño histológico posterior a la irradiación y las lesiones debidas a la senectud.

Existen muchas teorías propuestas para explicar el fenómeno conocido como envejecimiento. Dichas teorías difieren en sus proposiciones básicas referibles principalmente a defectos genéticos intrínsecos o bien a la acumulación al azar de mutaciones somáticas. Es claro que el envejecimiento tiene un componente genético y un componente ambiental según Comfort (1968): "La mayoría de los gerontólogos defienden una hipótesis general sobre el envejecimiento, como la pérdida de información celular probablemente en células fijas y originalmente al nivel molecular". Esta pérdida de información celular que es esencialmente irreversible, es dependiente del tiempo, de tal modo que se alcanza una etapa en la que el individuo no puede responder eficientemente a las variaciones ambientales.

Aunque el envejecimiento tiene su expresión a nivel celular, los eventos iniciales que conducen al deterioro de un organismo con el paso del tiempo, ocurren indudablemente al nivel molecular. Por consiguiente, es de primera importancia investigar los mecanismos por medio de los que la célula regula la síntesis y la actividad de sus enzimas, incluyendo el examen de los mecanismos de control de la transcripción y de la translación de la síntesis proteica, de la represión y de la depresión, así como el control hormonal.

Cada especie muestra un período de vida medio y máximo (Lansing, 1959) lo que implica claramente factores genéticos. Se ha sugerido que la explicación para este fenómeno reside en los genomas, ya sea que tengan programas genéticos diferentes o bien, diversos grados específicos de mutabilidad. Estos conceptos son posibilidades interesantes que han contribuido moderadamente a la interpretación en términos moleculares.

En el hombre, la longevidad tiene una base genética (Lansing, 1959; Kallmann y Jarvik, 1959). Existe una correlación positiva entre el período de vida de los progenitores y la de sus descendientes; los gemelos monocigóticos tienen un período de vida más similar entre sí que el de los gemelos dicigóticos, quienes a su vez tienen un período de vida más semejante que el de dos individuos tomados al azar en una población. Las causas de la muerte en gemelos monocigóticos son similares en una proporción dos veces mayor que en los gemelos dicigóticos, aunque se desarrollen en condiciones ambientales diferentes (Kallman y Jarvik, 1959). Las mujeres viven más tiempo que los hombres, aunque no parecen estar involucrados genes ligados al sexo en la determinación de la longevidad.

Se requiere una discusión más científica y más amplia, sobre los prospectos y directivas para la investigación sobre el envejecimiento, porque en la actualidad este problema no es en general, del conocimiento de los investigadores que no son especialistas en dicho campo, por lo que las decisiones que se planeen pueden ser fácilmente influidas por el tono optimista o pesimista de los investigadores especialistas. Los organizadores de investigación requieren estar enterados de la existencia de prospectos razonables, sobre la identificación de un proceso principal en el envejecimiento de los mamíferos, que podría ser sometido a interferencias que alargaran el

período de vida.

Aunque la posibilidad de una influencia sencilla en gran escala sobre la duración de la vida humana no se puede excluir en base a lo que se conoce en la actualidad, la mayor parte de los investigadores considera a la senectud de los mamíferos como un proceso tan complejo como las alteraciones inductoras de malignidad tisular, mientras otros investigadores con base en estudios evolutivos o en principios de genética, señalan que el proceso es esencialmente no modificable debido a razones de diversidad (Strehler, 1962). Junto con la pérdida de programación que descompensa progresivamente la homeostasis en función de la edad, se reporta la acumulación de defectos genéticos inaccesibles a la selección, por lo que este pesimismo podría estar justificado.

A juzgar por los congresos y publicaciones recientes, la mayoría de los investigadores en gerontología, tienen una hipótesis general principal sobre el envejecimiento que se expresa como la pérdida de información celular a nivel molecular probablemente en células fijas, siendo secundarias la dishomeostasis de otros tipos por la pérdida de información neuronal, endocrina e inmunológica. Dicha hipótesis está basada en la historia natural del envejecimiento en los organismos en general, o sea, en la biología de la radiación, así como en las matemáticas estocásticas aplicadas a las tablas de supervivencia.

La teoría general no excluye una identidad útil entre las causas del envejecimiento entre organismos diferentes, por ejemplo, entre los imagos de insectos y los cultivos de células de mamíferos, lo que aumenta las posibilidades experimentales de prueba.

En *Drosophila* se puede inducir acortamiento de la vida por irradiación o bien por adición al alimento de análogos de aminoácidos (Harrison y Holliday, 1967) antes de que el estado postmitótico se establezca, o sea durante la vida larvaria.

Se dispone actualmente de técnicas experimentales para el examen directo del funcionamiento del ADN en células fijas mediante la detección de materiales sin sentido (Orgel, 1963), así como de evidencias sobre síntesis compensatorias para restaurar la pérdida de precisión en la síntesis proteica (Clarke y Maynard-Smith, 1966) siguiendo los experimentos propuestos originalmente por Maynard-Smith (1959, 1962, 1966).

Entre los experimentos conclusivos sobre el problema, se tiene a los que demuestran que la información celular puede ser protegida mediante sustancias que prolongan la vida de células fijas. Los reportes de Harman (1962) sobre el efecto de agentes antioxidantes como prolongadores del período de vida en ratones y los datos presentados por Félix *et al.* (1970b) constituyen, contribuciones válidas en favor de la protección de la información genética.

La interpretación de los datos experimentales parece ser compatible con algunos de los postulados de la teoría de la mutación somática del envejecimiento, dentro de los límites impuestos por las consideraciones que se analizan. Estos datos, que no constituyen una prueba de la teoría, tampoco la refutan. En general, las teorías concernientes a los mecanismos del proceso normal de envejecimiento, son extremadamente difíciles de probar en el terreno experimental, por lo que cualquier resultado experimental relevante al problema, ya sea inconclusivo, o bien, que tenga una correlación definitiva con las hipótesis de trabajo, posibilita mecanismos factibles de ataque, para la resolución ulterior del problema.

Una de las teorías más discutidas sobre el envejecimiento es la de la mutación somática, que propone al evento mutacional como la causa principal de la senectud (Szilard, 1959; Failla, 1960; Curtis, 1963). El concepto enunciado como mutación somática incluye a todas las alteraciones del material genético contenido en los cromosomas de las células somáticas, que al ocurrir en la línea germinal son identificables como mutaciones génicas o como aberraciones cromosómicas. Mientras Curtis (1963) hace explícito el concepto de que las mutaciones implicadas en el envejecimiento son las que se acumulan en las células que no se dividen, la misma asunción está implícita en las teorías de Failla (1960) y de Szilard (1959).

Szilard (1959) señala a la mutación somática como la causa fundamental del envejecimiento, asumiendo que la muerte celular ocurre cuando dos genes homólogos que intervienen en una función esencial, son modificados por la mutación. Cada mutación que hereda el individuo es designada por Szilard como una "falta", que difiere en su momento de ocurrencia de la mutación espontánea o "impacto" que tiene lugar en las células somáticas del adulto.

Failla (1958) también interpretó al envejecimiento como un efecto de la mutación, demostrando que es posible la aplicación de la función de Gompertz, utilizando los datos derivados de poblaciones de células en cultivos artificiales, si se asume que el cambio en el grado de mortalidad en relación al transcurso del tiempo, es un proceso resultante de eventos producidos por un impacto.

Las técnicas desarrolladas durante la última década para la observación de los cromosomas humanos proporcionan otro enfoque aplicable a la resolución del mismo problema. Bender y Gooch (1962) demostraron que las células de la sangre procedente de individuos expuestos accidentalmente a dosis muy moderadas de irradiación, contienen cromosomas anormales aún varios años después de la exposición. Por otra parte, Jacobs *et al.* (1964) descubrieron que en la sangre del hombre, las células con números anormales de cromosomas aumentan con la edad.

Las observaciones anteriores son también relevantes a la selección celular que debe ocurrir en la médula ósea (Bender y Gooch, 1962). Desde este punto de vista, las aberraciones cromosómicas observadas por Jacobs *et al.* (1964), deben corresponder a una pequeña proporción de las que tienen lugar espontáneamente, a no ser que las células con aberraciones tengan un valor adaptativo neutral o mayor al que exhibe el resto de la población, por lo que el efecto que tengan sobre el envejecimiento, según la teoría de la mutación somática, debe ser mínimo. Los órganos con proliferación celular activa como la médula ósea no envejecen, según dicho criterio.

En las células de los órganos con actividad mitótica muy reducida, como el hígado de los mamíferos, las aberraciones cromosómicas se acumulan en función de la edad (Crowley y Curtis, 1963), por lo que se afirma legítimamente que el envejecimiento celular así considerado, tiene lugar en los órganos con división celular muy reducida, o nula como el hígado y el sistema nervioso, respectivamente.

La investigación en cultivo de tejidos proporciona otra evidencia favorable a la teoría del envejecimiento de las células individuales. Hayflick (1965) descubrió que las células procedentes de varios órganos en cultivo de tejidos, pueden dividirse aproximadamente 50 veces antes de fragmentarse y morir exceptuando la posibilidad de que tenga lugar una alteración no definida en el cultivo, que por su naturaleza, lo transforma en un cáncer. Además, si las células con que se inicia el cultivo proceden de un animal longevo, pasan por un número menor de divisiones, que las que proceden de un animal joven. Los experimentos de Hayflick, constituyen una de las evidencias más firmes en favor de la teoría sobre la muerte celular causada por la acumulación de mutaciones.

En una serie de experimentos, Krohn (1966) injertó varias veces un fragmento de piel procedente de un ratón joven en ratones de la misma edad, dejando pasar cierto tiempo entre cada reinserto, que envejeció, a pesar de que los huéspedes sucesivos eran jóvenes. La pieza de piel reinjertada vivió durante un tiempo un poco mayor comparado con el período normal de la vida del ratón de cuya piel obtuvo el injerto, por lo que es permisible postular en ausencia de otro evento analizable, que la acumulación creciente de mutaciones, es la causa de la muerte de las células del injerto. Los experimentos anteriores demuestran el incremento de mutaciones en función del tiempo, en células somáticas que no se dividen, por lo que también den cierta justificación al postulado del envejecimiento celular.

En la imposibilidad de medir la frecuencia de mutaciones en células que no se dividen y que constituyen la mayor parte de algunos tejidos somáticos, se han ideado varios procedimientos para la estimación de la frecuencia con que tiene lugar la mutación somática. La conocida técnica de adición de colchicina a los tejidos o células en cultivo para la visualización de las aberraciones cromosómicas durante la metafase es aplicable también a las células que no se multiplican en condiciones normales, ya que la división celular suspendida se reanuda en algunos casos, por el efecto de factores externos. Por ejemplo, en el hígado se puede inducir actividad mitótica mediante la hepatectomía parcial o por inyección subcutánea de tetracloruro de carbono, que destruye aproximadamente el 65 por ciento del tejido hepático. Durante la regeneración, el índice mitótico alcanza su valor máximo a las 72 horas después del tratamiento, determinándose mediante el examen microscópico la frecuencia de las aberraciones cromosómicas acumuladas en las células somáticas en su período de vida previo a la actividad mitótica inducida artificialmente (Stevenson y Curtis, 1961).

Si se asume que, como ocurre en vegetales (Caldecott, 1961), la frecuencia de aberraciones es un índice de la frecuencia de mutaciones puntuales, el procedimiento citológico citado puede extrapolarse para la estimación indirecta de la frecuencia de mutaciones puntuales en el hígado de los mamíferos (Curtis, 1963).

Otro experimento que demuestra la relación causal entre las mutaciones y el envejecimiento, se refiere a la comparación de la frecuencia de aberraciones cromosómicas entre las células hepáticas de una línea de ratones de vida corta, y el mismo parámetro en otra línea que tiene una vida relativamente larga (Crowley y Curtis, 1963). Los resultados, demuestran que en los individuos de la primera línea las aberraciones cromosómicas tienen mayor incidencia que en los individuos cuyo período de vida es más prolongado. En las dos poblaciones la muerte se debe a una serie de causas diversas, por lo que se tiene confianza en que las diferencias entre los períodos de vida respectivos resultan de la diversidad en los procesos causativos del envejecimiento fisiológico y no de defectos o padecimientos específicos.

En otro experimento, cuyos resultados están en favor del mismo concepto, se compara la velocidad con que aumenta el porcentaje de aberraciones cromosómicas en el perro y en el ratón (Curtis *et al.*, 1954). Desde un punto de vista fisiológico es permisible adelantar que las células hepáticas del perro son muy semejantes y realizan las mismas funciones que las células hepáticas del ratón, y que, por lo tanto en las dos especies deben originarse aberraciones cromosómicas con una frecuencia similar en relación al tiempo. Por otra parte, el ratón envejece con una velocidad aproximadamente seis veces mayor que el perro, por lo que las aberraciones cromosómicas deben estar en una proporción seis veces mayor en las células del hígado del ratón. La contradicción aparente se resolvió mediante la observación citológica que demostró la validez de la segunda hipótesis. Cuando menos en estas dos especies, los hepatocitos envejecen a la misma velocidad que el animal de que son parte, si se considera válida la correlación entre el envejecimiento y la acumulación de eventos de tipo cromosómico.

Cuando se mide el efecto de la irradiación con rayos X según el porcentaje de aberraciones cromosómicas inducidas en el hígado del ratón, se encuentra, asimismo, una correspondencia notable, ya que las aberraciones aumentan por el tratamiento, decreciendo lentamente durante un período que puede comprender varios meses (Stevenson y Curtis, 1961). El porcentaje de aberraciones cromosómicas inducidas por la irradiación es proporcional a la dosis, lo mismo que el acortamiento de la vida.

El fraccionamiento de la dosis de irradiación o la reducción de la razón de dosis se traduce en un efecto biológico reducido, si se compara con el efecto de la aplicación de la misma dosis en un solo tratamiento cuando el parámetro que se mide, es la frecuencia de las aberraciones cromosómicas inducidas. Por ejemplo, una dosis de rayos X o de rayos gama administrada durante un período largo, tiene una efectividad aproximadamente igual al 25 por ciento de la misma dosis, administrada en una sola aplicación aguda. Si se irradia una población de ratones con 2,000 rad en una razón de dosis baja, que requiere el transcurso de varios meses, se obtiene un efecto equivalente al de una dosis de 500 rad aplicada en unos cuantos segundos. Al investigar el daño producido, según el porcentaje de aberraciones cromosómicas, se demuestra la misma relación (Curtis y Crowley, 1963). Por otra parte, en los experimentos de irradiación con neutrones, no se observa el efecto biológico anterior, que es en este caso, independiente de la razón de dosis, obteniéndose los mismos resultados para las aberraciones inducidas, cuya frecuencia depende únicamente de la dosis administrada (Curtis *et al.*, 1964).

Según los resultados anteriores, es permisible afirmar, que tanto para los diferentes tipos de radiación como para las diversas razones de dosis, existe una correspondencia entre la inducción de aberraciones y el acortamiento de la vida, por lo que sería sorprendente que no existiera una relación causal entre los dos efectos biológicos observados.

Los experimentos con fraccionamiento de la dosis, demuestran que existe una reparación activa del daño cromosómico, que debe operar tanto en las mutaciones espontáneas como en las inducidas, lo que se ha comprobado principalmente en la investigación de los procesos de reparación en bacterias. Por consiguiente, la imagen que se tiene en la actualidad del cromosoma, es la de una estructura lábil que continuamente se rompe y se repara. Algunas de las rupturas son de tal dimensión o de tal naturaleza, que resultan irreparables, la acumulación de las aberraciones cromosómicas derivadas de estas rupturas puede constituir la causa del envejecimiento celular y orgánico, según la abundante evidencia experimental descrita brevemente en los párrafos anteriores. Las células mitóticas del organismo son probablemente tan susceptibles a la mutación como las células somáticas que no se dividen, aunque aquéllas dispongan de un período reducido para la reparación durante la interfase por lo que, en estos tejidos el proceso de selección demostrado en las poblaciones celulares en proliferación, elimina a la mayor parte de las células portadoras de aberraciones, lo que no sucede en los tejidos en los que la actividad mitótica no tiene lugar.

La evidencia aportada principalmente por las investigaciones de Failla (1960), Curtis (1958) y Szilard (1959), contenida en la literatura resumida en este reporte, constituye una hipótesis de trabajo que por sus implicaciones relativas a la biología general, es investigada extensivamente.

#### LITERATURA CITADA

- BENDER, M. A. y P. C. GOOCH, 1962. Persistent Chromosome Aberrations in irradiated Human Subjects. *Radiation Res.*, 16: 44-53.
- BLAIR, H. A., 1958. A formulation of the relation between radiation dose and shortening of lifespan. *In: Proc. 2nd. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy*, Ginebra, 11: 118-120.

- CALDECOTT, R. S., 1961 *In: Effects of Ionizing Radiation on Seeds*, International Atomic Energy Agency, Vienna.
- CLARKE, J. M. y J. MAYNARD SMITH, 1966 Increase in the rate of protein synthesis with age in *Drosophila subobscura*. *Nature*, 209: 6277-629.
- COMFORT, A., 1968. Feasibility in Age Research. *Nature*, 217: 320-322.
- CROWLEY, C. y H. J. CURTIS, 1963. The development of somatic mutations in mice with aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 49: 626-628.
- CURTIS, H. J., 1958. Comparison of Life-Shortening Effects of Toxic and Radiation Stresses. *Radiation Res.*, 9. 104.
- CURTIS, H. J., 1963. Biological Mechanisms Underlying the Aging Process. *Science*, 141: 686-694.
- CURTIS, H. J. y C. CROWLEY, 1963. Chromosome aberrations in liver cells in relation to the somatic theory of aging. *Radiation Res.*, 19: 337-344.
- CURTIS, H. J., TILLEY y C. CROWLEY, 1964. *In: Biological Effects of Neutron and Proton irradiation*, Vol. II. Vienna, IAEA: 143-155.
- FAILLA, G., 1958. The aging process and cancerogenesis. *Proc. N. Y. Acad. Sci.*, 71: 1124-1140.
- FAILLA, G., 1960. *In: The Biology of Aging*, B. L. Streher (Ed.), American Institute of Biological Sciences, Wash, D. C.: 170-175.
- FÉLIX, R. y J. RAMÍREZ, 1967. Differential life shortening induced by irradiation with electrons in species of *Drosophila*. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México* 38, Ser. Biol. Exp., (1): 5-10.
- FÉLIX, R. y J. RAMÍREZ, 1969. A procedure for analyzing interspecific differences in the reduction of the life span of *Drosophila* species exposed as young adults to irradiation. *Drosophila Information Service*, 44: 81-84.
- FÉLIX, R., J. RAMÍREZ, O. OLVERA y V. M. SALCEDA, 1970a. Mortalidad y acortamiento del período de vida media inducidos por la irradiación con dosis subletales de electrones acelerados en adultos de *Drosophila melanogaster*. *In: I. Simp. Mex. Mut. Esc. Nac. Agr.* (En prensa).
- FÉLIX, R. J. RAMÍREZ, V. M. SALCEDA y A. DE GARAY A., 1970b. Efecto de los compuestos antioxidantes: hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado y galato de propilo sobre la vida media en *Drosophila melanogaster*. *In: I. Simp. Mex. Mut. Esc. Nac. Agr.* (En prensa).
- FORD, C. E., P. I. T. ILBERY y J. F. LOUTIT, 1957. Further *cytological observations* on radiation chimeras. *J. Cellular Comp. Physiol.* 50 Suppl. 1: 109-121.
- GRAHN, D. y K. F. HAMILTON, 1957. Genetic variation in the lethal response of four inbreed mouse strains to whole body X-irradiation. *Genetics*, 42: 189-198.
- HARMAN, D., 1962. Role of Free Radicals in Mutation, Cancer, Aging and the Maintenance of Life. *Radiation Res.*, 16: 753-763.
- HARRISON, B. J. y R. HOLLIDAY, 1967. Senescence and the fidelity of protein synthesis in *Drosophila*. *Nature*, 213: 990-992.
- HAYFLICK, L., 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cells strains. *Exp. Cell. Res.*, 37: 614-636.
- JACOBS PATRICIA, A., M. BRUNTON y W. M. COURT BROWN, 1964. Cytogenetic Studies in leucocytes on the general population: subjects of 65 years or more. *Ann. Hum. Genet.*, 27: 353-365.
- KALLMANN, F. J. y L. F. JARVIK, 1959. Individual differences in constitution and genetic background. *In: Handbook of Aging and the individual: Psychological and biological aspects*. J. E. Birren (Ed.), Chicago. University of Chicago Press, 216-263.
- KELLY, L. S., 1959. *In: Proceedings of a Conference on Radiobiology at the intracellular Level*, T. G. Hennesy y B.

- H. Levedhal (Eds.), Pergamon Press, London: 150.
- KROHN, P. L. (Ed.), 1966. *Topics in the Biology of Aging*. A Symposium Held at the Salk Institute for Biological Studies, John Wiley and Sons, New York.
- LANSING, A. I., 1959. General Biology of Senescence, *In: Handbook of Aging and the Individual: Psychological and Biological Aspects*. J. E. Birren (Ed.), Chicago University of Chicago Press 119-135.
- MAYNARD SMITH, J., 1959. Sex-limited inheritance of longevity in *D. subobscura*. *J. Genet.*, 56: 227-235.
- MAYNARD SMITH, J., 1962. Disruptive selection polymorphism and sympatric speciation. *Nature*, 195: 60-62.
- MAYNARD SMITH, J., 1966. *In: Topics in the Biology of Aging*. A Symposium Held at the Salk Institute for Biological Studies, John Wiley and Sons, New York: 9-36.
- ORGEL, L. E., 1963. The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to ageing. *Proc. US. Nat. Aca. Sci.*, 49: 517-521.
- PATTERSON, E. C., W. GILBERT y J. MATTHEWS, 1952. Time intensity factors of whole-body irradiation. *Brit. J. Radiol.*, 25. 427-433.
- SACHER, G. A., 1956. On the statistical nature of mortality with special reference to chronic irradiation mortality. *Radiobiology*. 67: 250-257.
- STEVENSON, K. G. y H. J. CURTIS, 1961. Chromosomal Aberrations in Irradiated and Nitrogen Mustard Treated Mice. *Radiation Res.*, 15: 774-784.
- STREHLER, B. L., 1962. Further Studies on the Thermally Induced Aging of *Drosophila melanogaster*. *J. Gerontol.*, 17: 347-352.
- SZILARD, L., 1959. On the nature of the aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 45: 30-45.