

## EFFECTOS PRODUCIDOS POR DOSIS SUPRALETALES DE RAYOS X EN LOS TEJIDOS DE *DUGESIA DOROTOCEPHALA* (TURBELLARIA, TRICLADIDA)

MARÍA TERESA GONZÁLEZ GARZA \*

ANTONIO VILLASANA \*\*

RAFAEL VILLALOBOS-PIETRINI \*

### RESUMEN

Dosis supraletales de rayos X produjeron las siguientes alteraciones en las planarias, que aparecieron 5 días después de la irradiación: hiperpigmentación subepidérmica, necrosis progresiva de la pared intestinal, debilitamiento de las paredes que rodean al intestino, herniación muscular y desgarramiento de la epidermis que arrastró consigo al mesénquima, a las células muertas del intestino y a los órganos y tejidos que se encuentran a ese nivel. El aumento en el número de estos desgarramientos a lo largo del cuerpo de las planarias produjo la desintegración total de los animales. Esta evidencia permitió considerar que los tejidos del aparato digestivo de las planarias son los más sensibles a los rayos X.

### ABSTRACT

Supralethal doses of X-rays produced the following alterations in planarians, appearing 5 days after irradiation: subepidermal hyperpigmentation, progressive necrosis of the intestinal walls, weakness of the walls surrounding the intestine, and epidermal rupture dragging along the mesenchyme, the intestine dead cells and tissues and organs placed at this level. The increase of number of this type of rupture along the planarians bodies produced the total disintegration of the animals. According to this observations it seems that the most radiosensitive tissue in planarians are those of the digestive tract.

### INTRODUCCIÓN

La radiosensibilidad diferencial de los seres vivos representa un fenómeno de gran interés en radiobiología, puesto que no sólo existen variaciones entre los organismos sino que también se presentan en los órganos y tejidos de un mismo organismo. Varios son los estudios que se han realizado sobre los efectos de las radiaciones en la supervivencia de las planarias (Laguarda-Figueras y Villalobos-Pietrini, 1967; Lange, 1968a) y acerca de la influencia de algunas variables en la misma, como: la alimentación (Lange, 1968a), la edad y la madurez sexual (Lange, 1968b), etcétera; por lo tanto es de importancia conocer a qué nivel tisular producen el daño crítico los rayos X en las planarias.

\* Laboratorio de Genética y Radiobiología, Instituto de Biología, UNAM.

\*\* Departamento de Histología, Facultad de Medicina, UNAM.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron planarias de la especie *Dugesia dorotocephala* (Woodworth, 1897), Hyman, 1939, que no presentaban órganos sexuales, lo cual se debe a que tienen un ciclo reproductor en el que los órganos sexuales empiezan a ser aparentes en invierno, alcanzando la madurez en primavera, para desaparecer nuevamente con el principio del verano. La colecta se hizo en otoño, en un estanque artificial del Jardín Botánico del Instituto de Biología (Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM). Fueron mantenidas a temperatura ambiente en el laboratorio, en recipientes de vidrio de 3,000 ml de capacidad con agua purificada "Electropura", que se cambió cada tercer día y se alimentaron con hígado de res o de cerdo, a una concentración final de 4 mg/ml, dos veces por semana.

El material usado para la dosimetría y la irradiación consistió de frascos de vidrio "Kimax" de 5 ml de capacidad con tapones de baquelita.

Para la irradiación se colocaron 55 planarias en cada frasco, haciendo un total de 220 en 4 frascos, sobre una superficie en la cual previamente se realizó el mapeo dosimétrico.

El aparato utilizado como fuente de rayos X fue el acelerador de electrones Van de Graaff del Instituto de Física (UNAM) con un blanco de oro, al que se aplicó un voltaje de 1.5 MeV y una corriente de haz de 20  $\mu$ A, obteniéndose una razón de dosis de 112.5 rads/min a una distancia de 5 cm de la ventana. La dosis total, seleccionada de experimentos previos (Villalobos-Pietrini,

1969) como dosis supraletal, fue de 3200 rads (r).

Para la dosimetría se preparó una solución 0.2 M de cloral hidratado "Baker", y el análisis del cambio de pH de las muestras, permitió conocer la dosis absorbida por el material, a través de la relación:

$$D = \frac{(\text{pH})_0 - (\text{pH})_1}{4.45} \times 10^4 \text{ r}$$

En donde,  $(\text{pH})_0$  y  $(\text{pH})_1$  corresponden a los valores de pH de las soluciones sin irradiar e irradiada respectivamente (Reyes-Luján *et al*, 1968).

Se hicieron preparaciones con 10 planarias normales (testigos) con el objeto de establecer una comparación entre los tejidos normales (sin irradiar) y los tejidos irradiados.

Posteriormente a la irradiación se fijaron grupos de 8 planarias en los días 1º y 5º, y a partir del 10º, la fijación fue diaria hasta el 15º día, después del cual se presentó el 100% de mortalidad.

La preparación del material para observaciones histológicas se hizo de la manera siguiente: se colocaron las planarias en formol al 10% durante 24 horas; después se lavaron con agua de la llave y se deshidrataron por medio de alcoholes graduales hasta el absoluto; se hicieron cambios de cloroformo, y posteriormente, de parafina a 55°C; en esta sustancia fueron incluidas. Los bloques se orientaron de manera de obtener cortes longitudinales, que se tiñeron por medio de la técnica de hematoxilina-eosina.

## RESULTADOS

El análisis microscópico permitió considerar lo siguiente: en las preparacio-

nes del primer día se observó una apariencia general normal de los tejidos

(Fig. 1), excepto la hiperpigmentación subepidérmica. En todas las preparaciones obtenidas 5 días después de la irra-

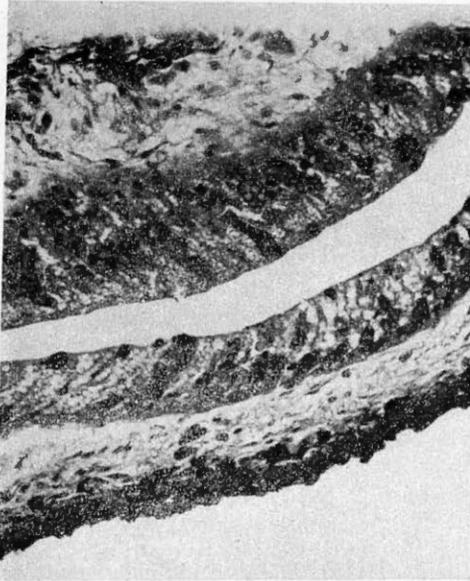


Fig. 1. Corte longitudinal de planaria (testigo). Aspecto normal del intestino (Amplificación 500 X).

diación, se notó la aparición de una ligera necrosis progresiva de la pared intestinal (Fig. 2), mientras que la apariencia

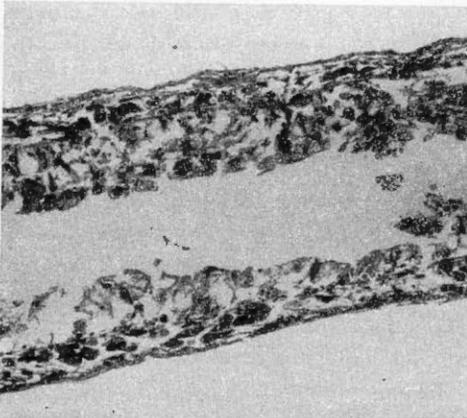


Fig. 2. Comienzan a aparecer restos de células muertas en las planarias irradiadas (Amplificación 500 X).

de los demás tejidos era normal, a excepción también de la hiperpigmentación subepidérmica. En las preparaciones de los días siguientes se observó la destrucción del epitelio intestinal con la aparición de fragmentos celulares en la luz del intestino, que aumentaron en número con el transcurso del tiempo, alcanzando la necrosis total del epitelio intestinal (Fig. 3). Esto pudo ocasionar el debilitamiento de las paredes que rodean el intestino produciendo la herniación del músculo que se proyecta ha-

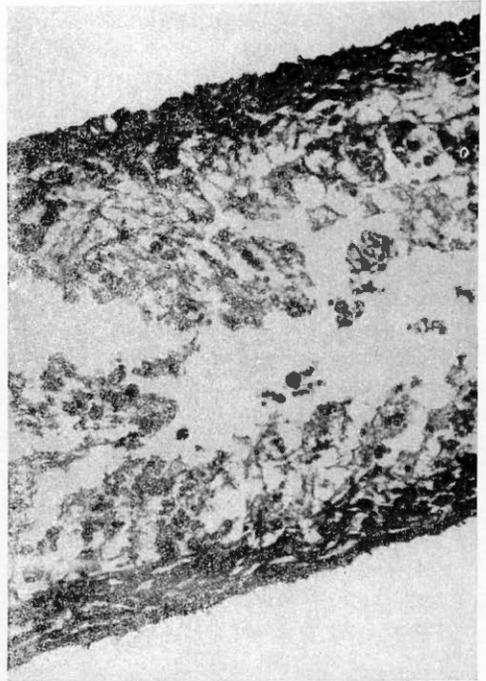


Fig. 3. El número de las células muertas se hace más abundante, produciéndose la necrosis del epitelio intestinal (Amplificación 500 X).

cia la superficie del cuerpo, lo cual causó el desgarramiento de la epidermis, y arrastró al mesénquima, a las células muertas del intestino y a todos los órganos y tejidos que se encontraron a ese nivel (Fig. 4). A lo largo del cuerpo de las planarias, aparecieron abultamientos cada vez en mayor número, que evolu-

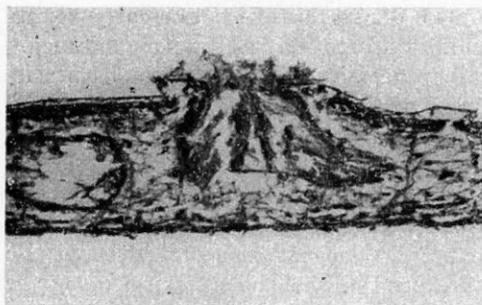


Fig. 4. Desgarramiento de la epidermis de la planaria y salida de células y porciones de tejidos (Amplificación 500 X).

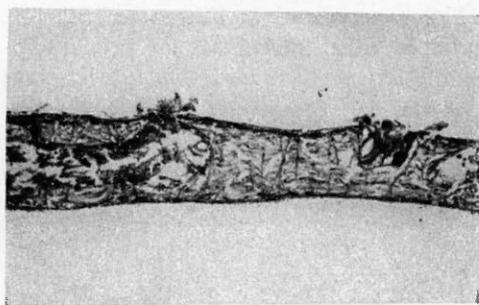


Fig. 5. Aparición de desgarramientos a diferentes niveles del cuerpo de la planaria (Amplificación 500 X).

cionaron en grandes porciones destruidas (Fig. 5); el animal pierde su faringe y se altera el aspecto general de su cuerpo dando la impresión de una masa informe con regiones blancas y par-

das, que posteriormente se desintegran, lo que provoca la destrucción total del organismo. Este proceso se llevó al cabo en un lapso de aproximadamente 3 a 5 días.

## DISCUSIÓN

Las planarias utilizadas en los experimentos tuvieron un lapso mínimo de una semana de adaptación a las condiciones del laboratorio antes de que fueran irradiadas. Estuvieron sin alimento durante la semana previa al tratamiento, aunque Lange (1968a) demostró que el grado metabólico antes de la irradiación no afectó ni a la mortalidad ni al tiempo en que se verifica ésta.

Con la interrupción del suministro de alimento post-irradiación en planarias fisíparas, como *Dugesia etrusca* (no sedentaria), Lange (1968a) obtuvo el aumento del tiempo de supervivencia y de la proporción de supervivientes, lo cual apoya la idea de que el incremento en la mortalidad de las planarias está relacionado con el aumento del grado metabólico. Lange (1968b) sólo logró un pequeño incremento en el tiempo de supervivencia en planarias sedentarias como *Dugesia lugubris*, pero no obtuvo ningún cambio en el número de supervivientes, al no alimentarlos después de la irradiación.

Los efectos del estado del ciclo de vida de las planarias irradiadas, no tienen influencia en la mortalidad de las mismas, puesto que no se encontraron diferencias significativas entre planarias jóvenes y adultas (McWhinnie y Gleason, 1957). Las planarias jóvenes tienen mayor grado metabólico y menos neoblastos que las planarias adultas, pero también mayor densidad de neoblastos en los tejidos. Tanto la densidad de neoblastos en los tejidos (que disminuyen con la edad) como su número absoluto (que aumenta con la edad) son aparentemente factores de igual importancia en la mortalidad inducida por las radiaciones. Lange (1968b, 1968c) considera que la pendiente de la curva de supervivencia de los neoblastos es la determinante mayor de la curva obtenida con los organismos completos.

Lange (1968a) probó también los efectos de los antibióticos (que son efectivos para los comensales de las planarias) en relación con su efecto sobre la

mortalidad de las planarias, y encontró que no la alteran significativamente, concluyendo que la muerte de éstas después de la irradiación no es el resultado de la infección.

Aparentemente la irradiación con dosis elevadas afecta a los tejidos más radiosensibles como el aparato digestivo, y además disminuye la cantidad de neoblastos que, según Lange y Gilbert (1968), regenerarían las porciones dañadas. Es posible considerar que la despoblación de los tejidos "esenciales" producida por las radiaciones es adjudicable especialmente al aparato digestivo en las planarias.

La muerte de las planarias tratadas con dosis letales de rayos X es ocasionada por la necrosis del epitelio intestinal que provoca la desintegración total del organismo. Quastler *et al.* (1951), al obtener curvas idénticas de dosis respuesta al irradiar a los ratones totalmente y al aplicarles rayos X en la porción intestinal, le adjudican al daño intestinal la causa de la muerte por radiación y acuñan el término "muerte intestinal por radiación aguda".

En animales con sistema circulatorio se presenta una forma más común de

muerte por radiación debida a las alteraciones de los tejidos hematopoyéticos que modifican los mecanismos de defensa y producen la bacteremia, pero esto no excluye la participación del daño del intestino dentro del síndrome general (Haley, 1963).

En las planarias sólo se observaron daños significativos en el epitelio intestinal, por lo que se supone que éste sea el tejido más sensible a las radiaciones. Bardeen y Baetjer (1904) demostraron que los rayos X provocan una marcada inhibición de la regeneración de *Planaria maculata* y *Planaria lumbricus*, y los estudios histológicos no mostraron cambios en las células musculares, nerviosas y gonadales. Fedeca-Bruner (1965) observó que al aplicar 1000 R de rayos X se produce la destrucción de los testículos en *Dugesia lugubris*, pero éstos regeneran 25 a 30 días después de la irradiación, mientras que los otros tejidos no mostraron ningún daño.

De manera similar a lo que ocurre en las planarias, la hiperpigmentación subepidérmica también fue descrita en cobayos sometidos a dosis de 100 R (Maggiara, 1961).

#### AGRADECIMIENTOS

A la colaboración de J. Reyes-Luján y M. A. Limón del Laboratorio Van de Graaf, Instituto de Física (UNAM), en los trabajos de dosimetría; a F. Velázquez en la irradiación del material y a

Marcela Gutiérrez, del Laboratorio de Técnica Histológica del Departamento de Histología de la Facultad de Medicina (UNAM), en la preparación de los cortes histológicos.

#### LITERATURA

- BARDEEN, C. R. y F. H. BAETJER, 1904. The inhibitive action of roentgen rays on regeneration in planarians. *J. exp. Zool.* 1: 191-195.
- FEDECA-BRUNER, B., 1965. Regeneration des testicules des planaires apres destruction par les rayos X. In: Kiortsis, V. y H. A. Trampusch Ed.) *Regeneration in animals*. North Holland, Amsterdam; pp. 185-192.
- HALEY, T. J., 1963. Chemical protection against three types of radiation death, namely hemopoietic, gastrointestinal and the central nervous system. *Nuclear Hematol.* 2: 3-7.
- LAGUARDA-FIGUERAS, A. y R. VILLALOEOS-PIETRINI, 1967. Protection by scrotonin-creatinine sulfate complex of the planaria *Dugesia trigrina* against lethal effects of X-rays. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 126: 667-669.

- LANGE, C. S., 1968a. Studies on the cellular basis of radiation lethality. I. The pattern of mortality in the whole-body irradiated planarian (*Tricladida*, *Paludicola*). *Int. J. Radiat. Biol.* 13: 511-530.
- LANGE, C. S., 1968b. Studies on the cellular basis of radiation lethality. II. Survival-curve parameters for standardized planarian populations. *Int. J. Radiat. Biol.* 14: 119-132.
- LANGE, C. S., 1968c. Studies on the cellular basis of radiation lethality. IV. Confirmation of the validity of the model and the effects of dose fractionation. *Int. J. Radiat. Biol.* 14: 539-551.
- LANGE, C. S. y C. W. GILBERT, 1968. Studies on the molecular basis of radiation lethality. III. The measurement of stem-cell repopulation probability. *Int. J. Radiat. Biol.* 14: 373-388.
- MAGGIORA, A., 1961. L'épilation par rayons X chez le cobaye. *Dermatologica* 123: 115-118.
- MCWHINNIE, M. A. y M. M. GLEASON, 1957. Histological changes in regenerating pieces of *Dugesia dorotocephala* treated with colchicine. *Biol. Bull.* 112: 371-376.
- QUASTLER, H., E. P. LANZL, M. E. KELLER y J. W. OSBORNE, 1951. Acute intestinal radiation death. Studies on roentgen death in mice, III. *Am. J. Physiol.* 161: 546-556.
- REYES, J., S. A. REYES y M. A. LIMÓN, 1968. Dosimetry studies and radiolysis of aqueous solutions of chloral hydrate. *Rev. Mex. Fis.* 17: 263-287.
- VILLALOBOS-PIETRINI, R., 1969. Influencia del complejo serotonina-sulfato de creatinina en los efectos producidos por la razón de dosis y el fraccionamiento de la dosis de rayos X en la frecuencia de mortalidad de *Dugesia dorotocephala* (*Tricladida*, *Paludicola*). *An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. México* 40. Ser. Biol. Exp. (2):