

METABOLISMO DE I 131 EN PHERETIMA HAWAYANA (Rosa, 1891)

Por S. STUDENETZKY, N. ALTSCHULER* y H. NIEPOMNISZCZE

SUMMARY

I 131 metabolism in *Pheretima hawayana* (Rosa, 1891). — I 131, carrier free, was injected into the celoma of the earth-worm, *Pheretima hawayana* (Rosa, 1891). Individual measurements were made of radioactivity at different times after the injection, thus allowing the plotting of a retention curve of iodine. By this procedure a plateau starting at 48 hours was observed. By this method iodine distribution was studied in animals 48 hours after the isotope administration. A net accumulation was seen between somites 21 to 50. On the other hand the greatest concentration was in the intestine corresponding to the same region (anterior intestine). It was also established that the concentration of radioactivity in the celomic fluid is very low, and mainly due to iodide. Radioactivity was homogeneously distributed through the body.

Radioiodinated compounds were studied by paper chromatography of hydrolyzates of the animals after butanol extraction. The presence of diiodotyrosine was observed utilizing two different systems of solvents.

It has to be pointed out that the same results were seen when I 131 was administered externally, by placing the animals in a solution containing the isotope.

El metabolismo de compuestos yodados es un tema estudiado intensamente, en algunos cordados, particularmente mamíferos. El rol hormonal de algunos de dichos compuestos es un hecho bien conocido; lo mismo puede decirse sobre la propiedad de la glándula tiroidea de acumular el yoduro circulante en forma selectiva.

Es notable, sin embargo, que el ácido yodogorgónico, precursor de la tiroxina, fuese descubierto en la escleroproteína de un coral antes que en la

Laboratorio de Bioquímica Tiroidea, Centro de Endocrinología, Secretaría de Salud Pública y Comisión Nacional de Energía Atómica, Dpto. Aplicaciones. Avda. Libertador 8250, Buenos Aires.

(*) Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Rep. Argentina.

mencionada glándula, como ya lo cita Gorbman (2). Han pasado más de 50 años antes que C. Fromageot y col. (6) retomaran el tema, hallando además otros compuestos relacionados.

En 1954 Gorbman (9) identifica por primera vez monoyodotirosina (MIT) y diyodotirosina (DIT) en algunos moluscos y anélidos poliquetos sirviéndose para ello de yodo marcado. Algunos otros autores, han estudiado la captación de I 131 en distintos grupos, como ser: insectos, briozoos, etc. (10, 12 a 18) con resultados fructíferos.

En este trabajo se ha empleado el mismo isótopo como marcador utilizando como material biológico el oligoqueto *Pheretima hawayana* (Rosa, 1891) con el fin de hacer una contribución al conocimiento del metabolismo de este halógeno desde el punto de vista comparado.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material biológico utilizado consistió en especímenes de *Pheretima hawayana* (Rosa, 1891). A éstos se les administró I 131 ya sea mediante inyección intracelómica o por vía externa.

En el primer caso, mediante bulbo semiabierto con punta capilar cuyo diámetro oscila entre 0.1-0.2 mm, se introduce en el celoma de cada animal 2-4 λ de solución en la zona comprendida entre los somitos 50-70. La radiactividad así administrada es del orden de $5 \cdot 10^{-2} \mu$ Ci. Para poder ubicar la distribución inmediata a ojo desnudo el líquido contiene una pequeña cantidad de colorante vital (Giemsa, 1/100,000). El líquido se impulsa por contracción y expansión térmica del gas contenido en el bulbo.

Los especímenes se mantuvieron en tubos individuales con atmósfera húmeda y cerrados con algodón. A la radiactividad total inyectada se le da el valor de 100 %, siendo los ejemplares lavados con agua corriente antes de cada medición.

Para ofrecer el I 131 por vía externa se procedió de la siguiente manera: 5-6 animales se mantuvieron en celdilla de acrílico ($5.5 \times 4.5 \times 1.0$ cm). Para facilitar el pasaje de aire, la parte superior está recubierta con tejido plástico de malla abierta. Las celdillas contienen arena calcinada al rojo oscuro. Los ejemplares se mantienen 24 horas en dichas celdillas con 10 ml de agua corriente, al cabo de las cuales son transferidos a otras conteniendo I 131, en el mismo volumen de líquido, con una actividad final de 0.2μ Ci/ml.

Se trabajó con una temperatura ambiente del orden de 20° C.

La radiactividad se midió en un contador de pozo, de centelleo, con cristal de I Na (T1).

Para identificar los compuestos yodados se efectuaron cromatografías ascendentes sobre papel Whatman 1. Se sembraron homogenados o extractos bu-

tanólicos de éstos o bien de hidrolizados (pH2). Se utilizaron los siguientes sistemas de solventes metanol: acetato de amonio 0.2 M (1:2,5) MeAc-4 horas; butanol: etanol: hidróxido de amonio 2N (5:1:2) BEA-14 horas. Los cromatogramas fueron divididos en fracciones de 1 cm de longitud con el objeto de efectuar el barrido de la radiactividad.

Para estudiar en los animales la distribución de la radiactividad, se los somete a -20°C para endurecer el cuerpo, y se los secciona en segmentos de 10 somitos cada uno, midiéndose luego la radiactividad de dichos segmentos en el contador de pozo. Los segmentos se numeran de cabeza a cola.

Para el estudio de la distribución topográfica se determinó primero la distribución longitudinal total y, luego, la de tubo digestivo y pared del cuerpo, separadamente. El líquido celómico se extrajo mediante pipetas de punta capilar. Para la cromatografía de este último, se lo sembró directamente.

RESULTADOS

La radiactividad retenida luego de la inyección intracelómica, muestra una rápida caída al principio, como puede observarse en la figura 1. Esta se

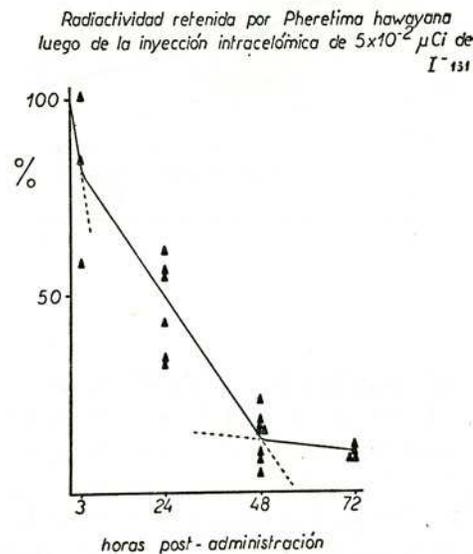


Figura 1

interpreta como una expulsión rápida de líquido a través de los notoporos, debido al aumento de presión hidrostática. Posteriormente, la velocidad de salida disminuye, índice que el I 131 es en su mayor parte excretado a

través de los nefridios. A las 48 horas el valor de la radiactividad es del orden del 14 % con respecto al inicial. Veinticuatro horas más tarde, el porcentaje retenido es un poco menor, en parte por la desintegración del isótopo. El nivel de I 131 tiende a mantenerse constante y, es muy probable, que una proporción relativa muy grande, se halle organificado.

En el caso de que el animal reciba I 131 en su medio ambiente, se observa una curva descendente similar a la anterior, como muestra la fig. 2. Pero el alto módulo de pendiente puede deberse a la expulsión de arena contaminada.

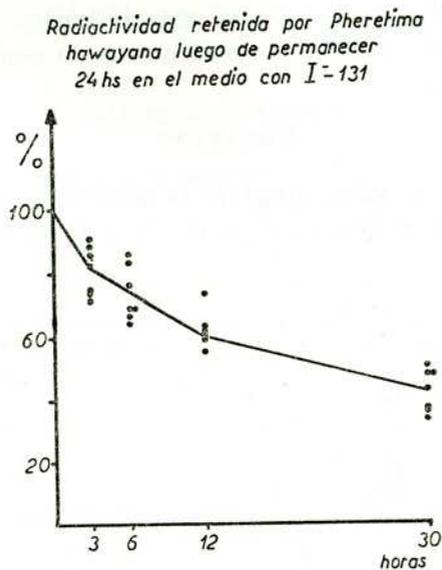


Figura 2

En la fig. 3 se observa la distribución de la radiactividad a lo largo del animal, luego de la administración intracelómica de I 131, estudiando a distintos tiempos post-inyección. En estadíos iniciales se observa un máximo cerca de la zona inyectada. En períodos posteriores este pico desaparece y aumenta la concentración en la zona anterior del animal, notablemente en en la región comprendida entre los somitos 21 al 50 (segmentos 3-5). Luego de 48 horas de la administración intracelómica la topografía de la radiactividad es la siguiente: en la pared del cuerpo hay una distribución más o menos homogénea en toda la extensión del animal. En cambio, en el tubo digestivo hay un pico de concentración entre los somitos 21 al 50. Un máximo coincidente se observa al determinar la radiactividad total del animal. Si se

asume que la pérdida de radiactividad al disecar cada segmento (líquido celómico, sangre, etc.) es aproximadamente la misma, teniendo en cuenta que es relativamente pequeña, se puede afirmar que el pico mencionado en segundo término es un reflejo del anterior (fig. 4).

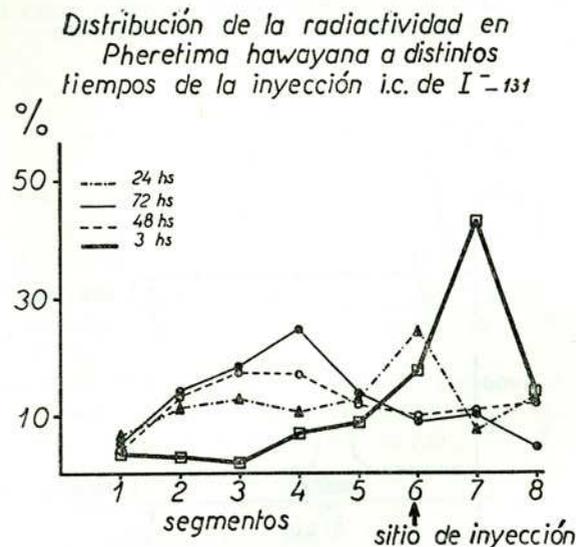


Figura 3

Distribución topográfica de la radiactividad luego de 48 hs de inyección intracelómica de I-131

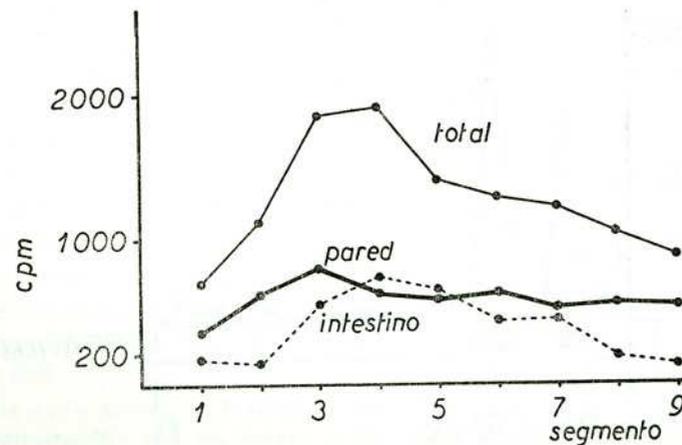


Figura 4

La figura 5 muestra los desarrollos cromatográficos en los dos sistemas de solventes, de un extracto butanólico de tubo digestivo, obtenido 48 horas luego de la inyección intracelómica de I 131. En ambos desarrollos se observa la presencia de DIT.

Distribución de la radiactividad
Cromatografía de extracto butanólico
de intestino-48 hs, i.c.

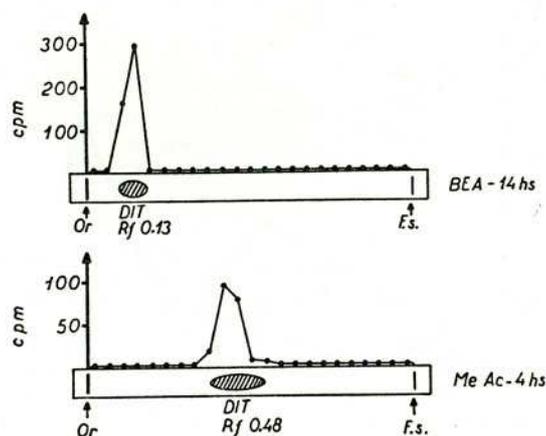


Figura 5

Distribución de la radiactividad
cromatografía de pared del cuerpo
48 hs, i.c.

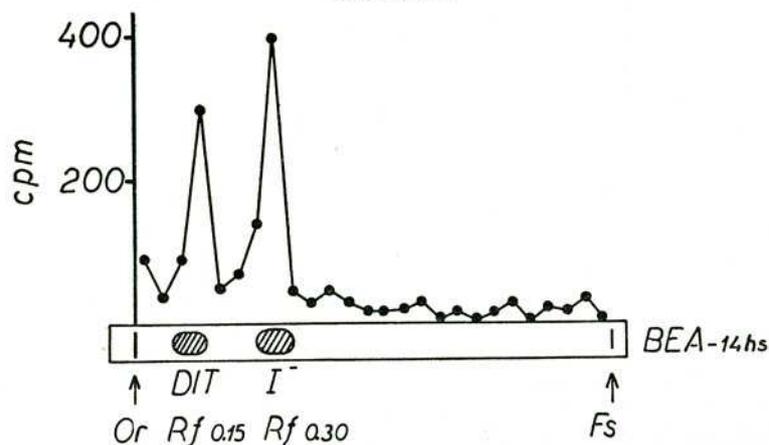


Figura 6

En un homogenado de la pared del cuerpo del mismo animal, se demuestra en forma análoga la presencia de DIT y de yoduro inorgánico (fig. 6).

Asimismo, por cromatografía se ha observado que la síntesis de DIT también tiene lugar cuando el I 131 se ofrece en el medio ambiente, es decir que las barreras biológicas permiten el paso del yoduro. También se observó que el animal excreta yoduro libre y no compuestos yodados.

BIBLIOGRAFIA

1. BAHL, K. N. 1943. *Pheretima* (an Indian Earthworm).—Indian zool. Mem.
2. Brookhaven Symposia in Biology, n° 7, 1954. "The thyroid", Brookhaven Nat. Laborat., U.S.A. Atomic Energy Comm., Upton, N. Y. pág. 3.
3. DE JORGE F. B., J. A. PETERSEN, A. F. DITADI and P. SAWAYA. 1966. Biochemical studies in a eunicid (polychaete) of the littoral of Sao Paulo (Brazil).—Comp. Biochem. Physiol. 17 : 535.
4. DE JORGE F. B., P. E. HAERER, A. S. F. DITADI, J. A. PETERSEN, A. B. ULHOA CINTRA and P. SAWAYA. 1965. Biochemical studies on the giant earthworm *Glossocolex giganteus* (Leuckart).—Comp. Biochem. Physiol. 16 : 491.
5. DE JORGE F. B., P. SAWAYA, J. A. PETERSEN and A. S. F. DITADI. 1965. Iodine accumulation by *Balanoglossus gigas*.—Science 150 (3700): 1182.
6. FROMAGEOT C., M. JUTIOZ, M. LAFON and J. ROCHE, 1948. Presence of monoiodotyrosine in the gorgonin of *Gorgonia verrucosa*.—C. R. Soc. biol. 142 : 785.
7. GATES, G. E. 1937. Indian earthworms. I. The Genus *Pheretima*.—Rec. Indian Mus. 39. 2.
8. GORBMAN, A. 1965. Some aspects of the comparative biochemistry of iodine utilization and the evolution of thyroidal function.—Physiol. Rev. 35 : 336.
9. GORBMAN A., M. CLEMENTS and R. O'BRIEN. 1954. Utilization of radioiodine by invertebrates with special study of several annelids and mollusca.—J. exp. Zool. 127 : 75.
10. HARRINGTON, J. S. 1961. Studies of aminoacids of *Rhodinus prolixus*. I. Analysis of the hemolymph.—Parasitology 51 : 309.
11. KHALAF EL-DUWEINI, A. 1940. The earthworms of Egypt.—Bull. Inst. égypt. 22 : 99.
12. LIMPEL L. E. and J. E. CASSIDA, 1957. Iodine metabolism in insects. I. Metabolism in vivo of radioactive iodide.—J. exp. Zool. 135 : 19.
13. LOW, E. 1951. Halogenated aminoacids of the bath sponge.—J. mar. Res. 10 : 239.
14. ROCHE, J. and M. LAFON. 1948. Iodine, thyrosine and iodine-containing aminoacids of the gorgonins; mechanism of iodination.—C. R. Soc. Biol. 142 : 1200.
15. ROCHE, J., G. RAMETTA and G. SALVATORE. 1961. Sur la fixation de l'iode par l'Enteropneuste (*Glossobalanus minutus* Kow.) et sa significance.—C. R. Soc. biol. 155 : 1902.
16. ROCHE J., S. ANDRÉ and I. COVELLI, 1960. Fixation of iodide by the mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and the nature of the iodine compounds formed.—C. R. Soc. biol. 154 : 2201.

17. ROCHE J., S. ANDRÉ and I. COVELLI, 1962. Fixation and assimilation of iodine by a bryozoon, *Bugula neritina*.—C. R. Soc. biol. 156 : 1817.
18. ROCHE J., S. ANDRÉ and I. COVELLI, 1964. Fixation and utilization of iodine — 131 by two bryozoa, *Bugula neritina* and *Schizoporella errata*.—Comp. Biochem. Physiol. 11 : 215 .
19. ROSA, D. 1891. Die exotischen Terricolen des k.k. naturhistorischen Hofmuseums.—Ann. naturh. (Mus.) Hofmus., Wien, 6 : 379.