

MODIFICACIONES EN LA ABSORCIÓN DE SODIO, CLORO Y AGUA EN YEYUNO "IN VIVO" POR ACCIÓN DE DROGAS.*

Sodium, Chloride and water absorption modifications induced by drugs in living jejunum intestine.

CARMEN PANTOJA V. y JUAN CONCHA B.*

RESUMEN

Se estudió el efecto de varias drogas, las cuales afectan la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

Noradrenalina (2.5×10^{-5} M) aumentó la absorción de sodio, cloro y agua, a través de la vía "shunt" y bomba de sodio de las membranas basolaterales del epitelio intestinal. Cuando se agregó Ouabaina (10^{-5} M) se inhibió la absorción de iones y de agua. Hubo una concomitante disminución de la diferencia de potencial transepitelial.

Aldosterona (12.5×10^{-7} M) en el lumen intestinal, activa la bomba de sodio, lo que condujo a un aumento en la absorción de sodio, cloro y agua.

Por otro lado, AMPc (10^{-3} M) y Acetazolamida (10^{-3} M) inhibieron la bomba y hubo una notable disminución en la absorción de sodio y cloro. El efecto de Acetazolamida es comparable al efecto obtenido cuando los iones cloro son removidos. La inhibición observada es de naturaleza competitiva, lo cual involucra una alteración del mecanismo de transporte Na-anión localizado en el borde en cepillo.

ADH (200 mU/ml) disminuyó la absorción de sodio, cloro y agua. Esto último es similar a lo que se observa en yeyuno e ileo humano in vivo.

ABSTRACT

The effects of several drugs which affect the absorption of sodium, chloride and water were studied on rat small intestine.

Norepinephrine (2.5×10^{-5} M) increased sodium, chloride and water absorption via the shunt pathway and through the sodium pump of the basolateral membranes of the intestinal epithelium. When Ouabain (10^{-5} M) was added, the absorption of ions and water were inhibited. There was a concomitant decrease in the transepithelial potential difference.

Aldosterone (12.5×10^{-7} M) placed in the luminal side of the small intestine, activates the sodium pump and an increase in the absorption of sodium, chloride and water was observed.

Departamento de Fisiología y Biofísica. Instituto de Ciencias Médico Biológicas. Universidad de Concepción. Chile.

*Trabajo financiado por Proyecto 2-09-29 de la Vice-Rectoría de Investigación y Proyecto PNUD/UNESCO. RLA. 76/006.

On the other hand, AMPc (10^{-3} M) and Acetazolamide (10^{-3} M) inhibited the pump and sodium, chloride absorption were markedly decreased. The effect of Acetazolamide is comparable to the effect obtained when chloride ions are removed. The observed inhibition is of a competitive nature which involves an alteration of the Na-anion transport mechanism found in the brush border membrane.

ADH (200 mU/ml) decreased sodium, chloride and water absorption. This latter finding is similar to those observed on "in vivo" human jejunum and ileum.

Keywords: Gut absorption. Drug action. Physiology.

INTRODUCCION

El estudio de los procesos de transporte en intestino en preparaciones in vitro, ha pretendido dilucidar los principios generales de la fisiología de membrana que se pueden aplicar a todas las células epiteliales y por otra parte profundizar acerca de los mecanismos responsables de los procesos de absorción y secreción in vivo (Koopman, W., Schutz, S. G. 1969; Frizzell, R. A., Schultz, S. G. 1972; Frizzell, R. A. *et al* 1973; Fromm, D. 1973; Nellans, H. N. *et al* 1973).

Así, se han establecido algunas características de los procesos fisiológicos intestinales.

En trabajos anteriores hemos cuantificado la absorción de sodio, cloro, agua, glucosa y triptofano en intestino delgado de rata, como también las alteraciones que el etanol introducido por vía digestiva puede provocar en la absorción de sodio, cloro, agua, glucosa y triptofano.

Una serie de sustancias como la hormona antidiurética, la nora-drenalina y la aldosterona actúan en epitelios como la piel y vejiga de sapo aumentando el transporte de sodio, cloro y agua por vía transcelular o a través de las uniones apretadas que existen entre las células epiteliales. Para el transporte transcelular es necesaria la intervención de la bomba de sodio y potasio que se encuentra ubicada en la membrana basolateral de las células transportadoras. Esta bomba puede bloquearse en forma específica por ouabaína.

En pieles de algunos batracios se ha descrito la existencia de una bomba que podría ser inhibida por acetazolamida (Erlj, D. 1971; Kristensen, P. 1972).

El AMP cíclico es una sustancia que actúa aumentando el transporte de sodio, cloro y agua en piel de sapo, el cual sería un segundo mensajero que se produciría por la acción de la adrenalina sobre la adenilciclasa de la membrana de las células transportadoras.

En el presente trabajo se estudiará la acción de las sustancias más arriba mencionadas, sobre el transporte de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata "in vivo" (yeyuno).

El intestino delgado como modelo de transporte es bastante diferente de la piel de sapo, por lo que los resultados de la acción de las sustancias estudiadas, pueden no concordar con lo que se observa en piel de batracios.

MATERIAL Y METODOS

Se trabajó con ratas albinas (250 a 300 grs.) en ayuno de 48 horas. Se anestesiaron con solución de uretano al 20% (1 ml. por 150 grs. de peso corporal).

Se empleó una preparación de yeyuno "in situ" (fig. 1). En el extremo proximal se colocó un pequeño embudo de plástico a través del cual iba la cánula de perfusión y un puente de Agar-Ringer conectado al electrodo de calomelano mucosal. Se perfundió suero fisiológico, a flujo constante de 0.5 ml/min. mediante una bomba polistáltica. La presión intraluminal se midió colocando un manómetro entre la bomba y el extremo proximal del segmento yeyunal. La diferencia de potencial se midió mediante 2 electrodos de calomelano, colocados uno en el lado mucosal y otro en el lado serosal de la preparación, estos a su vez iban conectados a un Polígrafo Grass modelo 5P1. Se hizo además registro de la frecuencia cardíaca, con el objeto de ver los posibles efectos cardiovasculares producidos por las drogas empleadas.

FIG. 1

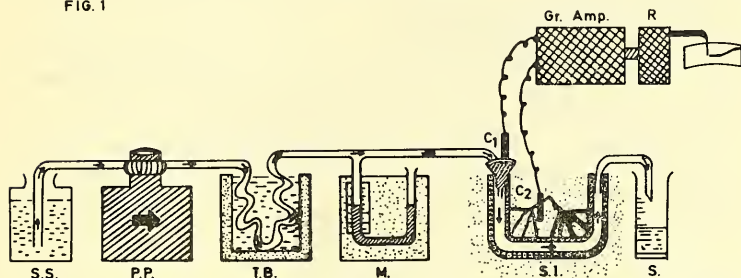


Fig. 1.- Representación esquemática del sistema de perfusión y registro en intestino delgado (yeyuno) de ratita.

S.S.= suero fisiológico; P.P.= bomba polistáltica; T.B.= baño termostático; M.= manómetro; S.I.= intestino delgado; R= registrador; S= muestras; Gr.Amp.= amplificador Grass 5P1.

Todas las experiencias se hicieron a 37°C, pH 7.4, a flujo constante (0.5 ml/min.) y presión intraluminal con escaso margen de variación. Las sustancias fueron perfundidas por vía intraluminal.

En cada experimento la misma ratita sirvió de control y luego de test, para obviar problemas de respuestas individuales.

Para las determinaciones de las diferentes sustancias se usaron los siguientes métodos:

- agua: método volumétrico directo.
- cloro: electrodo de cloro Orion, modelo 92-17.
- sodio: electrodo de sodio Thomas, modelo 4293-L 10.

En la preparación de las diferentes soluciones perfundidas, se utilizaron las siguientes sustancias con sus respectivas concentraciones en la solución de NaCl 154 mM:

- NaCl: 154 mM Lab. May & Baker.
- Noradrenalina: 2.5×10^{-5} M Lab. Beta.
- Ouabaína: 10^{-5} M G-Strophanthin Lab. Calbiochem.
- ADH: 200 mU/ml Pitressin Lab. Parke-Davis.
- d-Aldosterona: 2.5×10^{-7} M Lab. Sigma.
- Acetazolamida: 11.3×10^{-3} M Lab. Lederle.

Para los cálculos estadísticos se utilizaron las tablas de Bioestadística de H. Brancorft (1960).

RESULTADOS

En la figura 2 se puede observar que la Noradrenalina a una concentración final de 2.5×10^{-5} M en el lumen intestinal, provoca un aumento estadísticamente significativo ($p < 0.01$) en la absorción de sodio, cloro y agua. La diferencia de potencial no presentó un alza significativa.

Al agregar Ouabaína a una concentración final de 10^{-5} M en el lado luminal; después de Noradrenalina, hay una marcada inhibición en la absorción de sodio, cloro y agua. La diferencia de potencial disminuye por acción de la droga. (Tabla I).

Al estudiar el efecto de la Aldosterona a una concentración final de 12.5×10^{-7} M en el lumen intestinal, se puede observar que hay un aumento en la absorción de sodio, cloro y agua, la que coincide con un alza en la diferencia de potencial. (Fig. 3 y Tabla II).

Al introducir AMP cíclico a una concentración final de 10^{-3} M en el lado mucoso intestinal, se ve en la figura 4 que se produce una notable disminución en la absorción de sodio, cloro y agua. La diferencia de potencial disminuye notablemente, lo que se explica a través de la inhibición de la bomba de sodio. (Tabla III).

Al estudiar el efecto de la hormona antiidiurética, a una concentración final de 200 mU/ml, se observa en la figura 5 que hay una disminución en la absorción de sodio, siendo menos significativa en el caso del cloro y agua. La diferencia de potencial se mantuvo prácticamente constante, al igual que la presión intraluminal, la cual se mantuvo igual en todas las experiencias con las distintas drogas estudiadas. (Tabla IV).

Finalmente al agregar Acetazolamida a una concentración final de 11.3×10^{-3} M, se puede ver en la figura 6 que se produce una notable disminución en las absorciones de sodio, cloro y agua, resultados que concuerdan con otros autores. (Tabla V).

DISCUSION

Estudiando el efecto de la Noradrenalina a una concentración final de 2.5×10^{-5} M, se observa un aumento en la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado, resultados que concuerdan con otros autores (Albers, R. W. 1967; Dietz, J. and Field, M. 1973; Field, M. and Mc Coll Ian. 1973). La absorción tendría lugar a través de la vía "shunt" y la bomba de sodio de la membrana basolateral de las células epiteliales. Al agregar Ouabaína a una concentración final de 10^{-5} M, se ve una inhi-

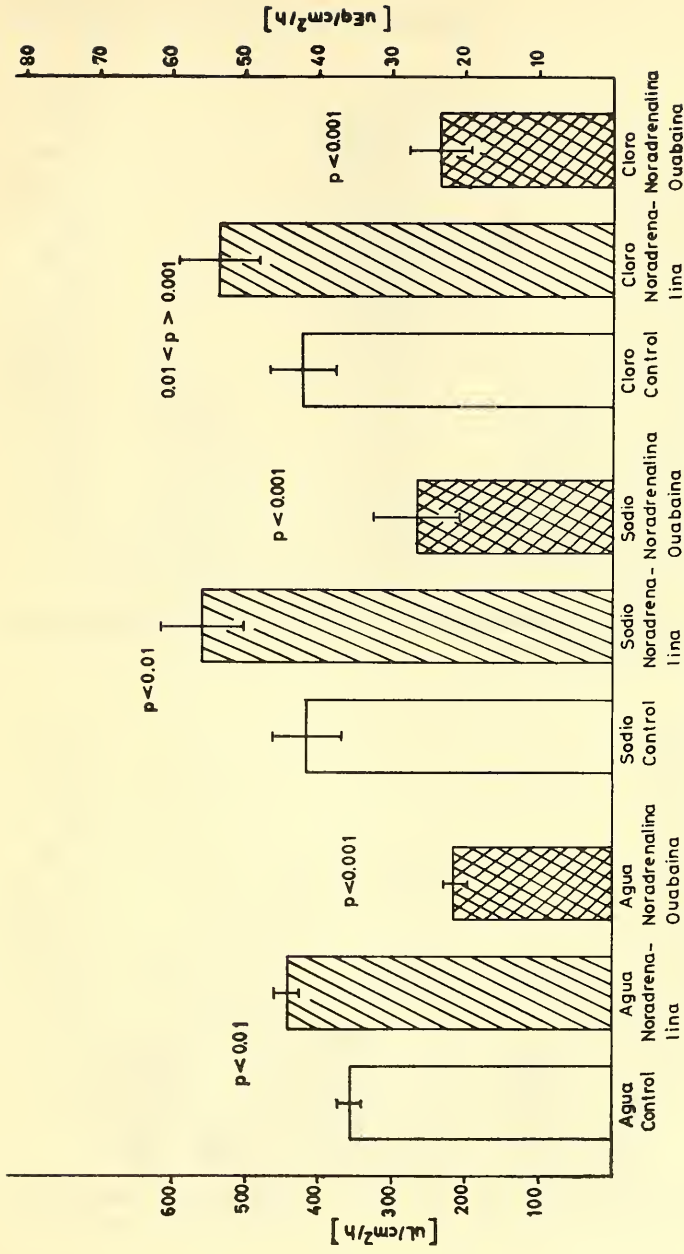


Fig. 2.- Efectos de Ouabaina 10^{-5} M, después de Noradrenalina, en la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata. Las líneas verticales indican la desviación standard.

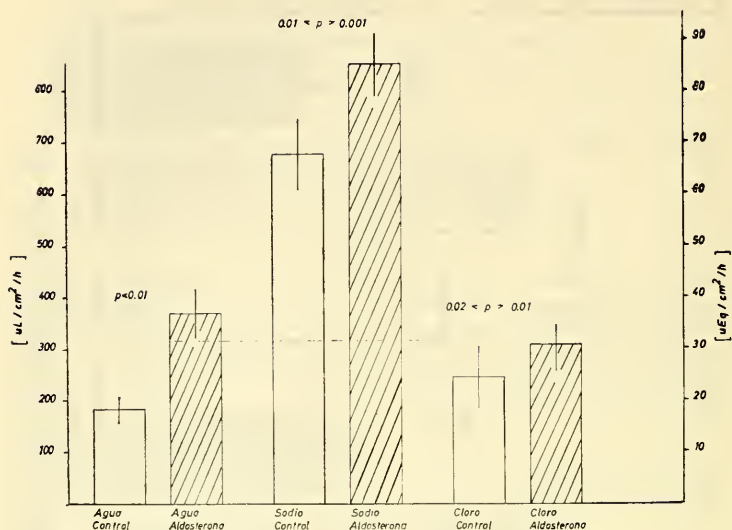


Fig. 3.- Efectos de Aldosterona 12.5×10^{-7} M, en la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

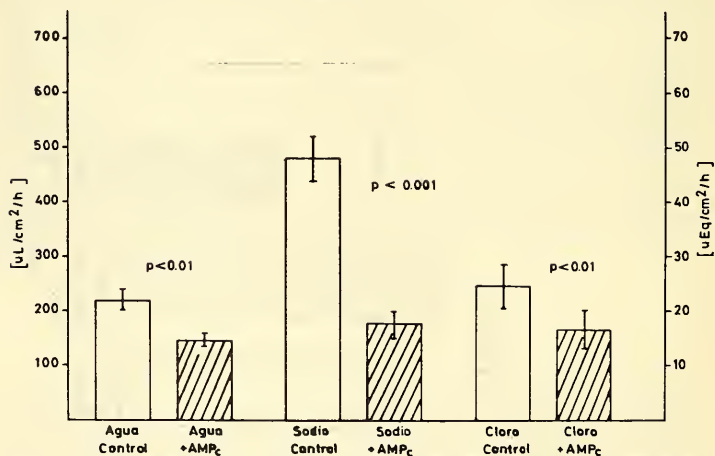


Fig. 4.- Efecto de AMP cíclico 10^{-8} M, en la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

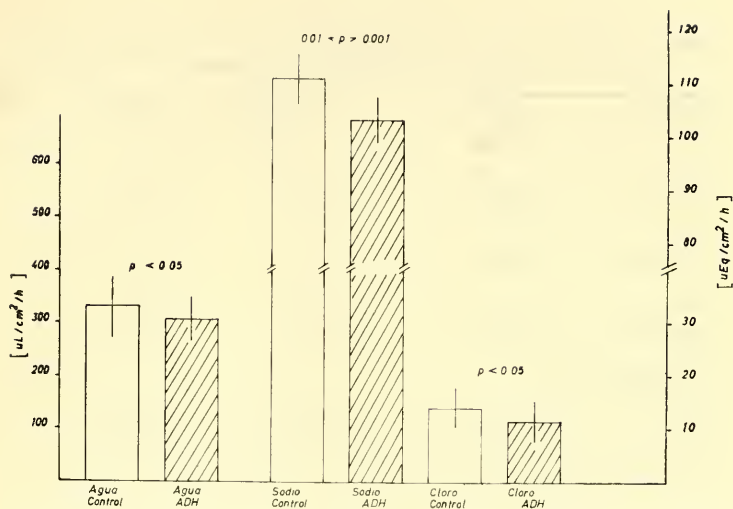


Fig. 5.- Efectos de ADH 200 mU/ml en la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

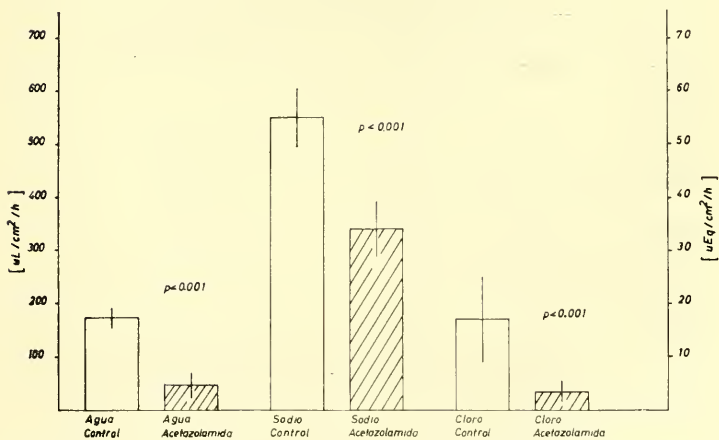


Fig. 6.- Efectos de Acetazolamida 11.3×10^{-3} M en la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

TABLA Nº 1.-

Efecto de Noradrenalina 2.5×10^{-5} M y Ouabaina 10^{-5} M sobre la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

SUBSTANCIA	CONTROL (9)*	NORADRENALINA 2.5×10^{-5} M	OUABAINA 10^{-5} M
AGUA uL/cm ² /hora	357±22	443±26 p < 0.01	215±13 p < 0.001
SODIO uEq/cm ² /hora	42.5±5	56±6 p < 0.01	27±6 p < 0.01
CLORO uEq/cm ² /hora	42±4.5	54±6 p < 0.01	24±4 p < 0.01
DIFERENCIA DE POTENCIAL mVolts	1.2±0.2	1.9±0.1 p < 0.01	0.8±0.2 p < 0.01

()*: número de experimentos.

TABLA Nº 2.-

Efecto de Aldosterona 12.5×10^{-7} M sobre la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

SUBSTANCIA	CONTROL (8)*	ALDOSTERONA 12.5×10^{-7} M
AGUA uL/cm ² /hora	183±25	370±46 p < 0.01
SODIO uEq/cm ² /hora	68±7	85±6 p < 0.01
CLORO uEq/cm ² /hora	24.5±6	31±4 p < 0.02
DIFERENCIA DE POTENCIAL mVolts	3.5±0.4	4.8±0.2 p < 0.01

()*: número de experimentos.

T A B L A N º 3.-

Efecto de AMP cíclico 10^{-3} M sobre la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

SUBSTANCIA	CONTROL (8)*	AMPc. 10^{-3} M
AGUA uL/cm ² /hora	220 ± 18	147 ± 12 p < 0.01
SODIO uEq/cm ² /hora	48 ± 8	18 ± 2.4 p < 0.001
CLORO uEq/cm ² /hora	24.7 ± 4	17 ± 3.4 p < 0.001
DIFERENCIA DE POTENCIAL mVolts	4.6 ± 0.3	2.5 ± 0.3 p < 0.001

()*: número de experimentos.

T A B L A N º 4.-

Efecto de la hormona antidiurética (ADH) 200 mU/ml sobre la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

SUBSTANCIA	CONTROL (8)*	ADH 200 mU/ml
AGUA uL/cm ² /hora	331 ± 56	307 ± 40 p < 0.05
SODIO uEq/cm ² /hora	111 ± 9	103 ± 8.6 p < 0.01
CLORO uEq/cm ² /hora	14 ± 3.6	11.5 ± 3.8 p < 0.05
DIFERENCIA DE POTENCIAL mVolts	1.6 ± 0.2	1.8 ± 0.2 p = 0.02

()*: número de experimentos.

TABLA Nº 5.-

Efecto de Acetazolamida 11.3×10^{-3} M sobre la absorción de sodio, cloro y agua en intestino delgado de rata.

SUBSTANCIA	CONTROL (6)*	ACETAZOLAMIDA 11.3×10^{-3} M
AGUA uL/cm ² /hora	159±11.6	59.5±10.7 p < 0.001
SODIO uEq/cm ² /hora	55±11	37±3 p < 0.001
COLORO uEq/cm ² /hora	17±4.5	4.5±3 p < 0.01
DIFERENCIA DE POTENCIAL mVolts	1.7±0.5	0.9±0.2 p = 0.1

(*)*: número de experimentos.

bición del transporte de sodio, lo que se acompaña de una disminución en las absorciones de cloro y agua (Caldwell, P. G., Keynes, R. D. 1959; Chez, R. A. *et al* 1967). Así, se observa que aunque la vía de baja resistencia es importante, la ruta de doble barrera transmembrana y bomba de sodio es también importante para la absorción de sodio, cloro y agua.

Los resultados obtenidos al agregar aldosterona a una concentración final 12.5×10^{-7} M, en el lumen intestinal, se pueden explicar en base al mecanismo de acción que presenta esta droga en otras células epiteliales (Darrell, D., Fanestic, M. D. 1969). En la célula epitelial intestinal actuaría a nivel de bomba de sodio, activándola, lo cual produce una mayor absorción de sodio y por consiguiente un aumento en la absorción de cloro y agua. Esta estimulación no es estadísticamente significativa, lo que puede deberse al hecho de que la aldosterona, al igual que en otros epitelios guarda relación con el AMPc, el cual, produce un bloque de la absorción en intestino delgado de rata.

En cuanto a los efectos del AMP cíclico 10^{-3} M (fig. 5) y Acetazolamida 10^{-3} M (fig. 6), ambos inhiben la absorción de sodio, cloro y agua. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores (Field, M. 1971). Ambos producen reducción de la entrada de sodio por el borde en cepillo, modificando el trabajo de la bomba de sodio, disminuyendo así la absorción de sodio, cloro y agua.

Se ha encontrado que así como la Acetazolamida (un inhibidor de la anhidrasa carbónica) inhibe la absorción en yeyuno de rata in vivo, inhibe también la absorción de sodio, cloro y la secreción de bicarbonato en ileo de rata in vivo (Phillips, S. F., Schmalz, P. F. 1970). Además, anula la absorción activa de cloro en yeyuno de perro in vivo, lo que ocasionaría una disminución del flujo de lumen a plasma, sin producir cambio en el flujo de plasma a lumen (Kinney, V. R., Code, C. F. 1964).

Inhibe también la absorción de sodio y cloro en ileo humano. Se ha visto que actúa a nivel de la bomba de sodio, disminuyendo la absorción de sodio, al mismo tiempo que anula la absorción de cloro, efecto que sería semejante a la remoción de cloro, lo cual podría deberse a una inhibición competitiva del mecanismo de transporte Na-anión, localizado en el borde en cepillo (Frizzell, R. A. *et al* 1973; Nellans, H. N., Frizzell, R. A., Schultz, S. G. 1973).

La hormona antiidiurética, a una concentración final de 200 mU/ml, provoca una disminución en la absorción de sodio, cloro y agua, lo cual concuerda con estudios de Soergel *et al* (1968), en yeyuno e ileo humano in vivo.

BIBLIOGRAFIA

- Koopman, W., Schultz, S. G., 1969. The effect of sugars and amino acids on mucosal sodium and potassium concentrations in rabbit ileum. *Biochem Biophys Acta* 173: 338-340.
- Frizzell, R. A., Schultz, S. G., 1972. Ionic conductances of extracellular shunt pathway in rabbit ileum. *J. Gen. Physiol.* 59: 318-346.
- Frizzell, R. A., Nellans, H. N., Rose, R. C., Markscheid-Kaspi, L. and Schultz, S. G., 1973. Intracellular chloride concentrations and influxes across the brush border of rabbit ileum. *Am. J. Physiol.* 224: 328-337.
- Fromm, D., 1973. Sodium and chloride transport across isolated proximal small intestine of the rabbit. *Am. J. Physiol.* 224: 110-116.
- Nellans, H. N., Frizzell, R. A., Schultz, S. G., 1973. Coupled sodium chloride influx across the brush border of rabbit ileum. *Am. J. of Physiol.* 225: 467-475.
- Erlj, D., 1971. Salt transport across isolated frog skin. *Phil. Trans. Roy. Soc. London B.* 262: 153.
- Kristensen, P., 1972. Chloride transport across isolated frog skin. *Acta Physiol. Scand.* 84: 338.
- Bancroft, H., 1960. Introduction of Bioestadistic. Editorial Universitaria. Buenos Aires.
- Albers, R. W., 1967. Biochemical Aspects of active transport. *Ann. Rev. of Biochem.* vol. 36: 727-756.
- Dietz, J. and Field, M., 1973. Ion transport in rabbit ileal mucosa. IV. Bicarbonate secretion. *Am. J. of Physiol.* 225: 858-861, Nº 4.
- Field, M. and Mc Coll Ian, 1973. Ion transport in rabbit ileal mucosa. III. Effects of catecholamines. *Am. J. Physiol.* 225: 852-857, Nº 4.
- Caldwell, P. G., Keynes, R. D., 1959. The effect of ouabain on the efflux of sodium from a squid axon. *J. Physiol. London.* 148.
- Chez, R. A., Palmer, R. R., Schultz, S. G., Curran, P. F. 1967. Effects of inhibitors on alanine transport in isolated rabbit ileum. *J. Gen. Physiol.* 50: 2357-2375.
- Darrell, D. and Fanestic, M. D., 1969. Mechanism of action of aldosterone. *Ann. Rev. of Med.* vol. 20: 223-232.
- Field, M., 1971. Ion transport in rabbit ileal mucosa. II. Effects of cyclic-3, 5-AMP. *Am. J. Physiol.* 221: 992-997.
- Phillips, S. F. and Schmalz, P. F., 1970. Bicarbonate secretion by the rat colon. Effect of intraluminal chloride and acetazolamide. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 135: 116-122.
- Kinney, V. R. and Code, C. F., 1964. Canine ileal chloride absorption: Effect of carbonic anhydrase inhibitor of transport. *Am. J. Physiol.* 207: 998-1004.
- Soergel, K. H., Whalen, G. E., Harris, J. A. and Greenen, J. E., 1968. Effect of anti-diuretic hormone on human small intestinal water and solute transport. *J. Clin. Invest.* 47: 1071-1082.