

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

EFFECTO DE UN INHIBIDOR DE LA VIA PARACELULAR
(2, 4, 6 TRIAMINOPYRIMIDINA) SOBRE EL MOVIMIENTO DE AGUA
Y ELECTROLITOS EN ILEON Y COLON DE CONEJO
"IN VITRO" E "IN VIVO"

Galindo, M.C.; Lisbona, F.; García, J.A. y Campos M.S.

RESUMEN

Se estudia la influencia de un inhibidor de la vía paracelular 2, 4, 6 Triaminopirimidina (TAP) sobre el movimiento de agua y electrolitos en ileon distal y colon proximal de conejo "in vitro" e "in vivo".

"In vitro" el TAP disminuye marcadamente la absorción de sodio, cloruro y aumenta la secreción de potasio, invirtiendo la transferencia de bicarbonato hacia la secreción.

"In vivo" el TAP a nivel ileal tiene un efecto similar al indicado "in vitro", si bien las diferencias son menos importantes, mientras que a nivel de colon ocurre todo lo contrario, aunque estos cambios no son importantes.

SUMMARY

The influence of an inhibitor of the paracellular pathways (2, 4, 6 Triaminopyrimidine, TAP) on the movement of water and electrolytes, in distal ileum and proximal colon of rabbit "in vitro" and "in vivo", have been studied.

"In vitro" the TAP significantly decreased the absorption of sodium, chloride and raised the secretion of potassium, reversing the transference of bicarbonate to the secretion, both in ileum and colon.

"In vivo" the TAP at ileal level had a similar effect than "in vitro", although the differences were less important. In the colon the changes were just the opposite, but they were no significative differences.

INTRODUCCION.-

Junto a la evidencia de una ruta transcelular de alta resistencia, se empezó a considerar la posibilidad de otra vía extracelular de baja resistencia eléctrica.

Varios autores (1, 2, 3) han sugerido que la mayor parte, si no todo el flujo de sodio serosa-mucosa, tiene lugar a través del paso paracelular. Esta vía paracelular es atribuible a simple difusión iónica (2).

CLARKSON (4) relaciona la existencia del camino paracelular con los espacios dejados por las células del intestino, que se exfolian a la cavidad abdominal. Sin embargo, se ha encontrado, en tejidos que no tienen capacidad de exfoliación, que el camino paracelular se materializa en los espacios intercelulares (5).

En el intestino, los espacios intercelulares forman el camino paracelular, aunque en este caso los huecos dejados por la exfoliación de los enterocitos a la cavidad luminal, también colaboran en la formación de esta vía.

FRIZZELL y col. (6) están a favor de un movimiento paracelular para el ion potasio, y afirman que la permeabilidad de esta ruta al potasio es 10 veces mayor que para el sodio, conclusiones que son apoyadas por FROMM y SCHULTZ (7) para el colon distal de conejo "in vitro". SMITH y McCABE (8) estiman que el componente paracelular para el potasio representa una pequeña fracción y afirman que la mayor ruta para la secreción de este catión es transcelular y activa.

El paso paracelular en el intestino delgado muestra selectividad iónica, tal que $PK^+ > PNa^+ > PCl^-$, siendo la permeabilidad a cationes, mucho mayor que a aniones (9).

El 2, 4, 6 Triaminopiridina (TAP), conocido bloqueador del paso paracelular (10, 11) en ileón de rata a una concentración de 25 mM, tiene solo un pequeño efecto inhibitor sobre la permeabilidad catiónica, no llegando a ser significativo (9). MORENO (12) en varios epitelios, mostró que el TAP, inhibe el movimiento paracelular de sodio sin afectar la permeabilidad aniónica y movimientos iónicos transcelulares. NAFTALIN y col. (13) también encuentran que el TAP a concentración 20 mM abole el flujo de sodio por la vía paracelular. Además, el TAP inhibe la permeabilidad pasiva al sodio sin afectar la permeabilidad al cloruro (10, 13), ni al agua (14).

Toda estas consideraciones nos han llevado a realizar el presente trabajo en el que se trata de conocer como el 2, 4, 6 Triaminopirimidina (TAP) inhibitor de la vía paracelular afecta el movimiento de sodio, potasio, cloruro, bicarbonato y agua en ileón distal y colon proximal de conejo en condiciones "in vitro" e "in vivo".

Material y Método

Se han utilizado treinta conejos machos (*Oryctolagus cuniculus*, de raza Castellana) con un peso medio de $1968g \pm 4g$. Los animales estaban provistos de agua y comida "ad libitum" hasta el día del experimento.

La anestesia se practicó vía intravenosa, con etil-uretano al 20% peso/volumen, en la vena marginal de la oreja.

Experimentos "in vitro"

Se practicó laparotomía media y se aislaron sendas asas ileal y colónica de unos 10 cm de longitud (la ileal desde la válvula ileocecal en dirección cefálica y la colónica desde la ampolla del colon en dirección caudal).

Una vez aisladas las asas intestinales son lavadas con la solución a ensayar a 37°C y cerradas por un extremo, introduciéndose posteriormente en un frasco de incubación.

En las asas se introducían 5 ml de una solución standard que contenía Na^+ 140mEq/l, K^+ 5mEq/l, Cl^- 120mEq/l, CO_3H^- 25mEq/l, polietilenglicol (PEG) 4.000 2g/l y manitol 1.8g/l y se mantenía en ella durante 30 minutos.

El frasco de incubación contenía esta misma solución y se hacía burbujear continuamente en su interior carbogeno (95% de O_2 y 5% de CO_2).

Estos experimentos se utilizaron como patrón.

En los experimentos problema la solución standard es adicionada de 2, 4, 6 Triaminopirimidina (25 mM) y se procedía de igual manera que en los experimentos patrón, pero utilizando distintos animales para no introducir en el mismo segmento intestinal ambas soluciones (standard y problema) por el posible efecto que pudiera ejercer el tiempo que transcurre desde el aislamiento de la porción de intestino.

Experimentos "in vivo"

Tras laparotomía media y manejándose con cuidado el paquete intestinal se localizaron el ileon distal y colon proximal. Las asas intestinales tienen igual localización y longitud que "in vitro" pero se mantenían en el animal, introduciéndose en ambos extremos sendos tubos de polivinilo de diámetro similar al de la luz intestinal (6 y 8 mm en ileon y colon respectivamente) que se ajustaron al intestino con lino del N.O.

Los animales así preparados se colocaron en una cámara termorregulada (37°C). El resto del experimento se realizó siguiendo la técnica de Sols y Ponz (15).

Las asas son lavadas con solución standard (de composición idéntica a los experimentos "in vitro") y una vez lavadas y vacías completamente se le introdujeron 5 ml de dicha solución en los experimentos patrón y en su caso la solución problema, que es idéntica a la standard pero adicionada de 2, 4, 6 Triaminopirimidina (25 mM).

El cloruro y bicarbonato se determinaron por volumetría potenciométrica, con NO_3ag y ClH respectivamente.

El sodio y potasio se determinaron por fotometría de llama. La presencia de PEG 4.000 servía para determinar el movimiento de agua y el movimiento neto de iones; la determinación se realizó por la técnica de HYDEN (16).

Los resultados obtenidos eran estadísticamente analizados utilizando la "t" de Student.

Resultados y Discusión

El 2, 4, 6 Triamoniopirimidina (TAP) se ha puesto de manifiesto bloquea específicamente la permeabilidad pasiva para el sodio a través de las uniones estrechas catión-selectivas, sin afectar la permeabilidad de aniones, ni el movimiento transcelular de iones (12).

En nuestras condiciones experimentales "in vitro" en que se pone TAP en ambos lados de la pared de ileon terminal y colon proximal de conejo, este inhibidor de la vía paracelular afecta e movimiento de todos los iones estudiados de forma significativa. Así, a los dos niveles de intestino (ileon y colon) disminuye la absorción de sodio y cloruro ($p < 0.001$), en tanto aumenta la secreción de potasio ($p < 0.001$) y la transferencia de bicarbonato la invierte hacia la secreción ($p < 0.001$) (Tabla I).

TABLA I

Influencia de un inhibidor de la vía paracelular (TAP) sobre el movimiento de agua y electrolitos en Ileon y Colon de conejo "in vitro".

Segmento	Experimento	Intercambio H_2O ml	Intercambio Na^+ μEq	Intercambio K^+ μEq	Intercambio Cl^- μEq	Intercambio CO_3H^- μEq
Ileon	Patrón	$+2,2 \pm 0,2$	$+324 \pm 22,7$	$-7 \pm 1,6$	$+285 \pm 21,4$	$+49 \pm 5,2$
	Problema (TAP)	$-0,5 \pm 0,1$	$-8 \pm 17,4^{000}$	$-46 \pm 3,6^{000}$	$-30 \pm 14,1^{000}$	$-37 \pm 8,8^{000}$
Colon	Patrón	$+1,0 \pm 0,1$	$+149 \pm 10,7$	$-16 \pm 1,0$	$+111 \pm 9,0$	$+23 \pm 2,2$
	Problema (TAP)	$-0,7 \pm 0,2$	$-51 \pm 34,0^{000}$	$-39 \pm 3,0^{000}$	$-70 \pm 30,9^{000}$	$-26,0 \pm 7,3^{000}$

Signo (+) indica absorción y signo (-) secreción.

⁰⁰⁰ $p < 0.001$ en comparación con los experimentos patrón.

En los experimentos "in vivo" en que el TAP se sitúa únicamente a nivel mucosal y que según MORENO (12) tiene igual efecto que colocándolo a ambos lados, se observa que a nivel de ileón distal tienen lugar cambios en idéntico sentido que en condiciones "in vitro" si bien, estas diferencias no llegan a ser significativas, ocurriendo todo lo contrario a nivel de colon proximal, sin llegar a ser estos cambios importantes (Tabla II).

TABLA II

Influencia de un inhibidor de la vía paracelular (TAP) sobre el movimiento de agua y electrolitos en Ileon y Colon de conejo "In vivo".

Segmento	Experimento	Intercambio H ₂ O ml	Intercambio Na ⁺ μEq	Intercambio K ⁺ μEq	Intercambio Cl ⁻ μEq	Intercambio CO ₃ H ⁻ μEq
Ileon	Patrón	+1,0 ± 0,2	+130 ± 26,5	+7 ± 0,7	+154 ± 25,3	-24 ± 7,4
	Problema (TAP)	-0,6 ± 0,2	+ 67 ± 34,4	+4 ± 1,0	+132 ± 25,8	-63 ± 20,0
Colon	Patrón	+0,7 ± 0,2	+178 ± 39,5	-7 ± 3,4	+203 ± 25,9	-44 ± 21,2
	Problema (TAP)	+1,0 ± 0,2	+210 ± 35,9	-2 ± 1,4	+223 ± 27,8	-26 ± 12,4

Signo (+) indica absorción y signo (-) secreción.

Como puede observarse de los resultados comentados existen concordancias con la bibliografía en relación a lo que ocurre con el sodio (12); sin embargo, son totalmente contrapuesto en lo que se refiere al movimiento de aniones (Cl⁻ y CO₃H⁻).

En relación al potasio, tanto en ileon distal como colon proximal "in vitro" el aumento en la secreción de este catión, puede indicar de acuerdo con SMITH y McCABE (8) que dicha secreción es transcelular.

Estos resultados se ratifican a nivel ileal "in vivo", pero son totalmente opuestos en dichas condiciones en colon proximal.

Por lo que en general se puede indicar, que por ahora, no se ha encontrado ninguna explicación coherente a los resultados anteriormente comentados del efecto del inhibidor de la vía paracelular (TAP), sobre el movimiento de electrolitos en los dos segmentos de intestino objeto de estudio.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Schultz, S.G., Curran, P.F., Chez, R.A. y Fuisz, R.E., (1967). *J. Gen. Physiol.*, 50, 1241-1250.
- (2) Frizzell, R.A. y Schultz, S.G. (1972). *J. Gen. Physiol.*, 59, 318-346.
- (3) Clauss, W., Schafer, H., Horch, I. y Hörnicke, H. (1985). *Pflügers Arch.* 403, 278-282.
- (4) Clarkson, T.W. (1967). *J. Gen. Physiol.* 50, 695-727.
- (5) Frömter, E. y Diamond, J.M. (1972). *Nature*, 235, 9-13.
- (6) Frizzell, R.A., Koch, M.J. y Schultz, S.G. (1976). *J. Membr. Biol.* 27, 297-316.
- (7) Fromm, M. y Schultz, S.G. (1981). *J. Membr. Biol.* 63, 93-98.
- (8) Smith, P.L. y McCABE, R.D. (1984). *Am. J. Physiol.*, 247, G445-456.
- (9) Ruifrok, P.G. y Mol, W.E.M. (1983). *Biochem. Pharmacol.* 32, 637-640.
- (10) Moreno, J.H. (1975a). *J. Gen. Physiol.*, 66 (1), 97-115.
- (11) Robinson, J.W.L. y Antonioli, J.A. (1980). *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 4, 78-86.
- (12) Moreno, J.H. (1974). *Nature Lond.*, 251, 150-151.
- (13) Naftalin, R.J., Neale, H. y Simmons, N.L. (1975). *J. Physiol. Lond.*, 252, 7P-8P.
- (14) Moreno, J.H. (1975b). *J. Gen. Physiol.*, 66, (1), 117-128.
- (15) Sols, A. y Ponz, F. (1946). *Rev. Esp. Fisiol.*, 2, 283-384.
- (16) Hyden, S. (1955). *Lantbr. - Högsk. Ann.* 22, 139-145.