

---

# Efectos de la Epinefrina sobre el transporte de Potasio en el Colon

---

*Dr. Julio César Arévalo Acosta\*, Dr. José Rubén Elvir Mairena\*\*, Dra. Angela Santorsola Addante\*\*\**

---

## RESUMEN

### **EFFECTOS DE LA EPINEFRINA SOBRE EL TRANSPORTE DE POTASIO EN EL COLON.**

La homeostasis del potasio es de vital importancia para el mantenimiento de una gran variedad de funciones celulares. Estudios recientes sugieren que el colon de los mamíferos desempeña un papel importante en el mantenimiento del balance total de este ion. Se conoce que la epinefrina estimula la secreción activa de K<sup>+</sup> en el colon, pero todavía no se ha determinado con exactitud cuáles son los mecanismos de transporte que son afectados por este agente adrenérgico.

En el presente trabajo se demuestra que la epinefrina actúa a nivel de la membrana laterobasal de las células epiteliales colónicas, incrementando la actividad de la ATPasa de Na-K y del cotransportador Na-K-2Cl.

*Palabras claves:* epinefrina, transporte de potasio, colon, captación de <sup>86</sup>Rb.

---

Centro de Biofísica-Bioquímica, I.V.I.C, Venezuela  
Estudiante de Postgrado en Fisiología y Biofísica, I.V.I.C. y  
Profesor Titular I, Depto. Fisiología, U.N.A.H. Servicio de  
Medicina Interna, Hospital "Dr. Domingo Luciani". I.V.S.S.,  
Venezuela.

## INTRODUCCIÓN

El intestino grueso de los mamíferos regula el volumen y el contenido de las heces. En condiciones normales, el colon humano absorbe agua, sodio y cloruro, mientras secreta potasio y bicarbonato.

Cambios en este patrón normal de movimiento de iones y agua ocurren en una gran variedad de condiciones patológicas (colitisulcerativa<sup>01</sup>, enfermedad de Crohn<sup>2</sup>, cloridorea congénita<sup>3</sup>, síndrome de diarrea acuosa<sup>4</sup> y colitis colagenosa<sup>5</sup>, entre otras) y pueden ser observados en diferentes condiciones experimentales<sup>6</sup>. De allí radica la importancia del estudio de los diferentes mecanismos de transporte iónico a nivel del colon, así como su regulación, y los posibles mecanismos que podrían modificarlos.

La homeostasis del potasio es de vital importancia para el mantenimiento de una gran variedad de funciones celulares (reacciones bioquímicas, conducción de impulsos nerviosos y contracción muscular). Bajo condiciones normales, el balance total de potasio es mantenido por absorción a nivel del tracto gastrointestinal y excreción a través del riñón. En condiciones patológicas el tracto gastrointestinal podría convertirse en la ruta principal para la excreción de este ion.

Estudios recientes sugieren que el colon de los mamíferos desempeña un papel importante en el mantenimiento del balance total de potasio en el



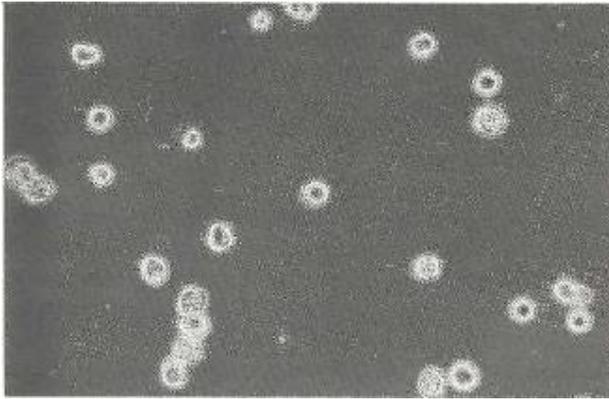


Figura 2. Micrograf (a de contraste de fase de la preparación de células aisladas de colon distal de cobayo. La suspensión celular fue mezclada 1:1 con una solución de azul de tripano al 0.5% (25X).

**Captación de  $^{86}\text{Rb}$ :** La captación de  $^{86}\text{Rb}$  fue medida en presencia y en ausencia de sodio en el medio de incubación. Para reemplazar el sodio se utilizó N-metilglucamina; las células aisladas fueron lavadas por centrifugación con sus respectivos medios y resuspendidas en el mismo medio a la concentración deseada. Posteriormente las células fueron preincubadas durante 20 minutos a  $25^{\circ}\text{C}$  con agitación y oxigenación. La captación fue iniciada al agregar 25  $\mu\text{l}$  del medio conteniendo el radioisótopo a 225  $\mu\text{l}$  del medio de incubación conteniendo las células. Se tomaron muestras de 200  $\mu\text{l}$  a los intervalos deseados, las cuales fueron diluidas en 800  $\mu\text{l}$  del medio de incubación a  $4^{\circ}\text{C}$  e inmediatamente fueron centrifugadas a 1300g por 20 segundos. La radioactividad intracelular fue medida por centelleo líquido y corregida por la actividad presente en el volumen atrapado, el cual fue determinado utilizando [ $^{14}\text{C}$ ]-inulina<sup>(11)</sup>.

El efecto de la epinefrina sobre la captación de  $^{86}\text{Rb}$  fue estudiado al agregar el agonista al medio que contenía las células durante la preincubación.

**Determinación de proteínas:** La cantidad de proteínas fue determinada por el método modificado de Azul de Coomassie<sup>(12)</sup>.

**Estadística:** Los resultados son expresados como las medias  $\pm$  el error estándar, indicándose el número total de observaciones. Las diferencias entre las medias en distintas condiciones se compararon usando el test t student para datos no pareados. Se usó  $p < 0.05$  como nivel límite de significación estadística.

## RESULTADOS

En la figura 3 se observa el efecto de ouabaína y bumetanida sobre la captación de  $^{86}\text{Rb}$  en colonocitos aislados de cobayo en presencia y ausencia de sodio en el medio de incubación, independientemente de la presencia o no de inhibidores. La mayor captación fue obtenida cuando las células fueron incubadas en el medio que contenía sodio. Cuando este ion fue sustituido por N-metilglucamina la captación de  $^{86}\text{Rb}$  fue considerablemente reducida. Estos resultados indican la presencia de mecanismos independientes y dependientes de sodio.

### Captación de $^{86}\text{Rb}$ en colonocitos

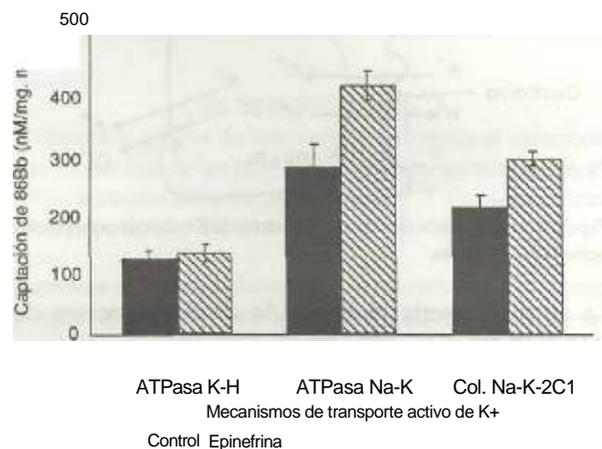


Figura 3. Captación de  $^{86}\text{Rb}$  en colonocitos aislados de cobayo, en presencia y ausencia de sodio en el medio de incubación. Efecto de ouabaína (1 mM) y bumetanida (1 OuM). En la condición sin sodio, éste fue sustituido por N-metilglucamina. Los valores representan la media  $\pm$  el error estándar de 3 experimentos diferentes.

Para evaluar la presencia de la ATPasa de K-H sensible a ouabaína e independiente de sodio en los colonocitos aislados, estudiamos el efecto de la ouabaína sobre la captación de  $^{86}\text{Rb}$  en ausencia de sodio en el medio de incubación. En estas condiciones, la captación fue inhibida significativamente por ouabaína, pero no fue afectada por bumetanida, lo que indica la presencia de una fracción de captación sensible a ouabaína e independiente de sodio. La bumetanida en este caso no produjo efecto alguno, lo que indica que en ausencia de sodio el cotransportador Na-K-2C1 se encuentra inhibido.

/ En base a estos resultados, establecimos que los valores atribuibles a la ATPasa de K-H correspondían a la

captación de  $^{86}\text{Rb}$  sensible a ouabaína en ausencia de sodio en el medio de incubación. Los valores para la ATPasa de Na-K correspondieron a la diferencia entre la captación sensible a ouabaína en presencia y ausencia de sodio. Los valores atribuibles al cotransportador Na-K-2C1 correspondieron a la captación sensible a bumetanida en presencia de sodio en el medio de incubación.

En la figura 4 se observa el efecto de la epinefrina sobre la captación de  $^{86}\text{Rb}$  en colonocitos aislados de cobayo, en presencia y en ausencia de sodio en el medio de incubación. Los resultados indican que el agente adrenérgico no afectó la captación del radioisótopo cuando no había sodio en el medio de incubación. Por el contrario, en presencia de sodio la epinefrina produjo un incremento significativo de la captación; ésto nos indica que este fármaco estaría afectando mecanismos de transporte de  $\text{K}^+$  dependientes de sodio.

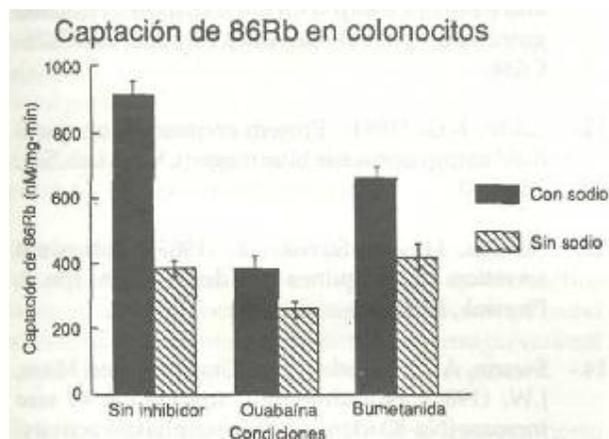


Figura 4. Efecto de epinefrina sobre la captación de  $^{86}\text{Rb}$  en colonocitos aislados de cobayo, en presencia y ausencia de sodio. Las células fueron preincubadas en presencia de epinefrina  $10^{-6}$  M durante 20 minutos antes de comenzar la captación. Los valores representan la media  $\pm$  el error estándar de 3 experimentos diferentes.

En la figura 5 se observa el efecto de la epinefrina sobre cada uno de los mecanismos responsables del transporte activo de  $\text{K}^+$  en los colonocitos aislados de cobayo. Los resultados indican, que las fracciones de captación de  $^{86}\text{Rb}$  atribuibles a la ATPasa de Na-K y al cotransportador Na-K-2C1 fueron elevadas significativamente, mientras que la fracción atribuible a la ATPasa de K-H no fue afectada.

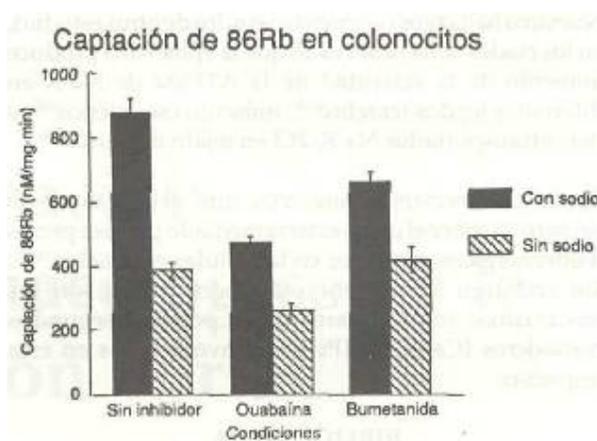


Figura 5. Efecto de epinefrina  $10^{-6}$  M sobre los mecanismos de transporte activo de  $\text{K}^+$  en colonocitos aislados de cobayo. Los valores para la ATPasa de K-H corresponden a la captación de  $^{86}\text{Rb}$  sensible a ouabaína en ausencia de sodio en el medio de incubación. Los valores para la ATPasa de Na-K corresponden a la diferencia entre la captación sensible a ouabaína en presencia y en ausencia de sodio. Los valores para el cotransporte Na-K-2C1 corresponden al flujo sensible a bumetanida en presencia de sodio en el medio de incubación. Los valores representan la media  $\pm$  el error estándar de 3 experimentos diferentes.

## DISCUSIÓN

En estudios recientes se ha observado que la epinefrina estimula la secreción activa de  $\text{K}^+$  en el colon como resultado de incremento del flujo de este ion de serosa a mucosa<sup>13</sup>. Sin embargo estos hallazgos han sido obtenidos utilizando como modelo experimental el epitelio colónico completo; ésto ha imposibilitado el determinar con exactitud cuáles son los mecanismos de transporte presentes en estas células que estarían siendo afectados por este agente adrenérgico.

En este trabajo, hemos utilizado un modelo experimental que nos permite discernir sobre cuál mecanismo de transporte activo de  $\text{K}^+$  estaría siendo afectado por la epinefrina. Existen fuertes evidencias que plantean que este agonista actúa estimulando la apertura de canales de  $\text{K}^+$  presentes en la membrana luminal, ya que se ha observado que al agregar bario o TEA a la luz del colon, el estímulo secretorio producido por la epinefrina es inhibido<sup>13</sup>. Esto explica lo que estaría sucediendo en la membrana luminal; sin embargo no existen evidencias sobre lo que sucede en la membrana laterobasal. Con nuestros resultados, demostramos que la epinefrina actúa a nivel de la membrana laterobasal incrementando la actividad de la ATPasa de Na-K y del cotransportador Na-K-2C1.

Nuestros hallazgos concuerdan con los de otros estudios, en los cuales se ha observado que la epinefrina produce aumento de la actividad de la ATPasa de Na-K en diferentes tejidos (cerebro<sup>04\*</sup>, músculo esquelético<sup>05\*</sup>, y del cotransportador Na-K-2CI en tejido intestinal<sup>03\*</sup>.

Evidencias recientes sugieren que el efecto de la epinefrina sobre el colon estaría mediado por receptores B-adrenérgicos presentes en las células epiteliales<sup>03-16</sup>. Sin embargo queda por establecer cuáles son los mecanismos intracelulares o los posibles segundos mensajeros (Ca<sup>++</sup>, AMPc, etc.) involucrados en esta respuesta.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Archanpong, E.Q.; Harri5, J. and Clark, C.G. (1972): The absorption and secretion of water and electrolytes across the healthy and diseased human colonic mucosa measured *in vitro*. Gut, 13:880-886.
- 2.- Head, L.H.; Heaton, J.W. and Kivel, R.N. (1969): Absorption of water and electrolytes in Crohn's disease of the colon. Gastroenterology, 56:751-779.
- 3.- Holmberg, C; Perheentupa, J. and Lumiala, K. (1975): Colonic electrolytes transport in health and congenital diarrhea. J. Clin. Invest, 56:302-310.
- 4.- Verner, J.B. and Morrison, A.B. (1958): Islet cell human and a syndrome of refractory watery diarrhea and hypokalemia. Am. J. Med., 25:374-380.
- 5.- Rask-Madsen, J.; Grove, O.; Hansen, M.; Bukhave, K.; Scient, C. and Hensik-Nielson, R. (1983): Colonic transport of water and electrolytes in a patient with secretory diarrhea due to collagenous colitis. Dig. Dis. Sci., 28:1141-1146.
- 6.- Johnson, L.: Physiology of the gastrointestinal tract. Second Edition. Vol.2. Raven Press. New York. 1987.
- 7.- McCabe, R.D.; Smith, P.L. and Sullivan, L.P. (1984): Ion transport by rabbit descending colon: mechanisms of transepithelial potassium transport. Am. J. Physiol., 246:G594-G602.
- 8.- del Castillo, J.R., Rajendran, B.M. and Binder, H.J. (1991): Apical membrane localization of ouabain-sensitive K<sup>+</sup> activated ATPase activities in rat distal colon. Am. J. Physiol., 261:G1005-G1011.
- 9.- Prizzel, J.: Intestinal absorption and secretion. Second Edition. M.T.P. Press Limited. Lancaster. 1983.
- 10.- del Castillo, J.R. (1987): The use of hyperosmolar intracellular like solutions for the isolation of epithelial cells from guinea pig small intestine. Biochem. Biophys. Acta., 901:201-208.
- 11.- del Castillo, J.R.; Ricabarra, B. and Sulbaran-Carrasco, M.C (1991): Intermediary metabolism and its relationship with ion transport in isolated guinea pig epithelial cell. Am. J. Physiol., 260:C626-C634.
- 12.- Gadd, K.G. (1981): Protein estimation of spinal fluid using coomassie blue reagent. Med. Lab. Sci., 38:61-63.
- 13.- Ishida, H. and Suzuki, Y. (1987): Potassium secretion in the guinea pig distal colon. Jpn. J. Physiol., 37:33-48.
- 14.- Swann, A.C.; Crawley, J.N.; Grant, S.J. and Maas, J.W. (1981): Noradrenergic stimulation *in vivo* increase (Na-K) adenosine triphosphatase activity. Life Sci, 28:251-256.
- 15.- Clausen, T. and Flatman, J.A. (1977): The effect of catecholamines on Na-K transport and membrane potential in rat soleus muscle. J. Physiol., 270:383-414.
- 16.- Arévalo, J.C.; Burgillos, L. y del Castillo, J. R. (1993): Efecto de agonistas adrenérgicos sobre el transporte de <sup>86</sup>Rb en colonocitos aislados de cobayo. II Congreso iberoamericano de Biofísica. México.