

Efecto de algunos derivados de la adenina sobre la secreción gástrica de ácido en estómago aislado de rata

J. M. Gandarias, L. F. Ainz, C. E. Gil-Rodrigo, J. J. Goiriena, R. Gómez e I. Martínez

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad del País Vasco
48080-Bilbao

(Recibido el 18 de enero de 1984)

J. M. GANDARIAS, L. F. AINZ, C. E. GIL-RODRIGO, J. J. GOIRIENA, R. GÓMEZ and I. MARTINEZ. *Effect of Some Adenine Derivatives on the Acid Secretion from the Isolated Whole Rat Stomach*. Rev. esp. Fisiol., 41, 83-88. 1985.

The adenine derivatives adenosine 5'-triphosphate (ATP), adenosine 5'-diphosphate (ADP), adenosine 5'-monophosphate (AMP) and adenosine (AD), in concentrations of 10^{-3} M and 10^{-4} M caused significant and dose-related modifications in the basal acid secretion from isolated whole rat stomach.

The first three purine derivatives, ATP, ADP and AMP significantly increased the spontaneous acid secretion. On the other hand, AD caused a significant reduction in the basal acid secretion.

When ATP, ADP, AMP and AD were assayed in the presence of the adrenergic and cholinergic blocking agents, ergotamine, 10^{-6} M, propranolol, 5×10^{-6} M and atropine, 10^{-6} M, all these purine derivatives, including AD, caused a significant increase in the basal acid secretion.

Key words: Acid secretion, ATP, Purinergic nerves.

La existencia de fibras nerviosas «no-adrenérgicas, no-colinérgicas» de carácter generalmente inhibitorio es un hecho conocido desde finales del siglo pasado (13). Sin embargo, es en 1972 cuando BURNSTOCK (3) aporta cierto número de datos que sugieren que la adenosina 5'-trifosfato*, o algún otro derivado de la adenina, actúa como neurotransmisor de este tipo de fibras para las que BURN-

STOCK acuñó el término de «fibras purinérgicas».

Es abundante la bibliografía existente acerca de la distribución, morfología, bioquímica, electrofisiología y farmacología de la inervación purinérgica en una gran variedad de tejidos y de especies animales (4, 6, 8, 9). Sin embargo, la mayoría de la información se refiere a la musculatura lisa gastrointestinal y es poca la existente acerca de la posible implicación de mecanismos purinérgicos en las secreciones gastrointestinales (7), especialmente en la secreción gástrica de ácido.

* Abreviaturas: Adenosina 5'-trifosfato (ATP), adenosina 5'-difosfato (ADP), adenosina 5'-monofosfato (AMP) y adenosina (AD).

En consecuencia, el objeto del presente trabajo es estudiar el efecto que el presunto neuromediador purinérgico ATP y los derivados de la adenina, ADP, AMP y AD despliegan sobre la secreción gástrica de ácido en estómago aislado de rata.

Material y métodos

Se han utilizado ratas Wistar inmaduras, machos y hembras, de 25-35 g. Los animales se mantuvieron a temperatura constante (25 °C) y ciclos regulares luz-oscuridad (12 h), teniendo acceso libre a comida y bebida hasta el comienzo del experimento.

Una vez sacrificado el animal mediante un golpe en la cabeza y un corte en el cuello para desangrarlo, se procedía a aislar y preparar el estómago de acuerdo con la técnica descrita por BUNCE y PARSONS (2).

Tras colocar el estómago en un baño de órganos conteniendo 20 ml de solución tamponada Krebs-Henseleit a 37 °C gaseada con carbógeno (95 % O₂ y 5 % CO₂), se perfundía solución Krebs-Henseleit no tamponada (2) a través de la luz gástrica. El flujo de perfusión (1 ml/min), se mantenía constante mediante una bomba peristáltica Broma 1S 16125 de LKB. Las fluctuaciones en la concentración de hidrogeniones del líquido de perfusión procedente del estómago se midieron con un electrodo Beckman 39501, conectado a un amplificador (10). La señal procedente del amplificador era registrada sobre papel en escala de pH y simultáneamente traducida a [H⁺], en nmol/min, mediante integración en un microordenador CBM 3032, a través de un convertidor analógico-digital (10).

La experimentación incluye dos series de pruebas, A y B. La serie A destinada a determinar el efecto de ATP, ADP, AMP y AD en dosis previamente selec-

cionadas, 10⁻³M y 10⁻⁴M, sobre la secreción gástrica de ácido. La serie B realizada para analizar las posibles interferencias de mecanismos adrenérgicos y colinérgicos en la acción de los adenínderivados utilizados a las dosis especificadas en la serie A. A tal fin, se ensayaron los agentes purinérgicos en presencia de bloqueantes adrenérgicos, ergotamina 10⁻⁶M, propranolol 5 × 10⁻⁷M y colinérgicos muscarínicos, atropina 10⁻⁶M.

Todos los valores de tasa de secreción de H⁺, nmol/min, que se citan en el apartado de resultados se expresan como la media ± e.s.m. de un número N de ensayos.

El tratamiento estadístico de los datos se llevó a cabo empleando el parámetro T de Student para datos apareados.

Los fármacos utilizados han sido: adenosina 5'-trifosfato, adenosina 5'-difosfato y adenosina 5'-monofosfato, en forma de sales sódicas (Sigma), adenosina (Merck), tartrato de ergotamina (Sandoz), clorhidrato de propranolol (ICI Farma) y sulfato de atropina (Miró).

Resultados

La media de la tasa de secreción basal de H⁺ antes de la adición de las purinas fue de 109,18 ± 6,3 nmol/min (n = 76). Esta secreción basal de ácido fue sustancialmente más elevada que la obtenida por BUNCE y PARSONS (2), 41,9 ± 3,1 nmol/min, hallándose próxima a la descrita por ANGUS *et al.* (1) para estómago perfundido de ratón, 109,6 nmol/min. En esta situación el ATP, ADP y AMP a concentraciones de 10⁻³M y 10⁻⁴M indujeron incrementos significativos de la secreción basal de ácido que guardaban relación con la dosis. El orden relativo de potencias fue: AMP ≥ ATP ≥ ADP. Por otra parte, la AD 10⁻³M y 10⁻⁴M promovió un descenso significativo de la secreción basal de ácido, dependiente también de la dosis.

Tabla I. Efecto de la adenosina 5'-trifosfato (ATP), adenosina 5'-difosfato (ADP), adenosina 5'-monofosfato (AMP) y adenosina (AD) sobre la secreción gástrica de ácido.

Serie A en ausencia y serie B en presencia de los agentes bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos. En cada caso se expresa la variación de la tasa de H⁺, en nmol/min, como la media ± e.s. para un número de pruebas, n.

| Purina | Variación media [H ⁺] nmol/min | | | | | |
|----------------|--|--------------------|---------|----|--------------------|--------|
| | n | 10 ⁻³ M | P | n | 10 ⁻⁴ M | P |
| Serie A | | | | | | |
| ATP | 9 | 21,78 ± 6,12 | < 0,01 | 6 | 7,49 ± 3,56 | < 0,05 |
| ADP | 8 | 13,47 ± 5,07 | < 0,05 | 18 | 3,11 ± 1,71 | < 0,05 |
| AMP | 7 | 28,85 ± 5,64 | < 0,01 | 13 | 8,53 ± 2,56 | < 0,01 |
| AD | 6 | -64,44 ± 18,96 | < 0,05 | 9 | -10,12 ± 3,05 | < 0,01 |
| Serie B | | | | | | |
| ATP | 9 | 23,69 ± 4,53 | < 0,001 | 8 | -2,49 ± 5,57 | N.S. |
| ADP | 9 | 50,22 ± 8,76 | < 0,001 | 7 | 0,31 ± 2,01 | N.S. |
| AMP | 8 | 10,96 ± 2,17 | < 0,01 | 5 | -3,54 ± 2,80 | N.S. |
| AD | 7 | 26,47 ± 5,38 | < 0,01 | 10 | 0,29 ± 2,88 | N.S. |

N.S. = no significativo.

En la serie B se ensayaron los cuatro derivados purínicos en presencia de agentes bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos (ergotamina, 10⁻⁶M; propranolol, 5 × 10⁻⁷M y atropina, 10⁻⁶M). Los estómagos estabilizados en el medio nutricio conteniendo estos agentes antagonistas mostraron una secreción basal de ácido de 92,67 ± 4,67 nmol/min (n = 63), significativamente inferior a la observada en ausencia de los mismos (P < 0.05). El ATP, ADP, AMP y AD a concentración 10⁻³M dieron lugar a incrementos significativos de la tasa de secreción de ácido y destaca la inversión del efecto de la AD. El orden relativo de potencias fue: ADP > AD ≥ ATP > AMP. Estos derivados purínicos no ejercieron ningún efecto significativo cuando se emplearon en concentración 10⁻⁴M (tabla I).

Discusión

A pesar del carácter fundamentalmente inhibitorio de las fibras nerviosas «no-

adrenérgicas, no-colinérgicas» o purinérgicas presentes en el tracto gastrointestinal (3, 4, 8, 9), los resultados obtenidos muestran que los agentes ATP, ADP y AMP, presuntos participantes en la actividad purinérgica, despliegan efectos activadores induciendo discretos incrementos en la secreción gástrica de ácido.

En contrapartida, la adenosina se comporta como un agente inhibitorio de la secreción de ácido.

BURNSTOCK (5) ha propuesto recientemente la existencia de dos tipos principales de purinoceptores, P₁ y P₂, sin descartar la posibilidad de subdivisión de los mismos. Según BURNSTOCK (5, 9) la adenosina se comportaría como el agonista más potente a nivel de purinoceptores P₁.

A juzgar por los resultados obtenidos, la marcada respuesta inhibitoria de la adenosina frente a las discretas respuestas excitadoras del ATP, ADP y AMP, parece sugerir una presunta intervención mediadora de purinoceptores P₁ dentro del complejo sistema regulador de la secreción gástrica de ácido.

Se ha descrito que la adenosina despliega por una parte un efecto inhibitor presináptico en las sinapsis colinérgicas y adrenérgicas (9) y, por otra parte, un efecto potenciador postsináptico para la acetilcolina (11, 12). Así mismo, la adenosina verifica efectos directos de índole diversa en distintos tejidos a través de dos subtipos de purinoceptor P_1 denominados R_1 y R_a (14-16).

En base a ello cabría sugerir un efecto múltiple de la adenosina cuya resultante, en ausencia de bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos, sería la inhibición presináptica de las sinapsis colinérgicas, con el consiguiente efecto inhibitor de la secreción de ácido. En contrapartida, la presencia en el medio de bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos aboliría, presumiblemente, el efecto presináptico permitiendo la exteriorización de los otros efectos de carácter discretamente excitatorio. Ello explicaría, al menos parcialmente, la inversión anotada en el efecto de la adenosina.

En cuanto a los derivados fosforilados de la adenosina, inducen efecto excitador significativo de la tasa de secreción de ácido tanto en presencia como en ausencia de bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos. Este hecho y la relación poco definida de potencias farmacológicas detectadas en ambas series sugieren cierta diversidad en cuanto a la modalidad de actuación, siendo necesario tomar en consideración su presunta vinculación al metabolismo de la célula oxíntica y, en consecuencia, al mecanismo metabólico implicado en la secreción gástrica de ácido. En cualquier caso, los resultados obtenidos sugieren la implicación de mecanismos purinérgicos en la regulación de la secreción gástrica de ácido.

Resumen

Los derivados de la adenina, adenosina 5'-trifosfato (ATP), adenosina 5'-difosfato (ADP), adenosina 5'-monofosfato (AMP) y adenosina

(AD), a concentraciones de $10^{-3}M$ y $10^{-4}M$ inducen modificaciones significativas dependientes de la dosis en la tasa de secreción basal de ácido en estómago aislado de rata. El ATP, ADP y AMP incrementan significativamente la tasa de secreción de H^+ . En contrapartida, la adenosina da lugar a un notable descenso de la misma. En presencia de agentes bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos, ergotamina, $10^{-6}M$, propranolol, $5 \times 10^{-7}M$ y atropina, $10^{-6}M$, tanto la adenosina $10^{-3}M$ como estos derivados provocan incrementos significativos en el nivel de secreción de ácido, no afectándose a concentraciones inferiores.

Bibliografía

1. ANGUS, J. A., BLACK, J. W. y STONE, M.: *Br. J. Pharmac.*, 68, 413-423, 1980.
2. BUNCE, K. T. y PARSONS, M. E.: *J. Physiol.*, 258, 453-465, 1976.
3. BURNSTOCK, G.: *Pharmacol. Rev.*, 24, 509-581, 1972.
4. BURNSTOCK, G.: En «Purine and Pyrimidine Metabolism», Ciba Foundation Symposium 48 (New Series). Elsevier — Excerpta Medica — North Holland, Amsterdam, 1977, pp. 295-307.
5. BURNSTOCK, G.: En «Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: a Multidisciplinary Approach» (Straub, R. W. y Bolis, L., eds.), Raven Press, Nueva York, 1978, pp. 107-118.
6. BURNSTOCK, G.: En «Physiological and Adenine Nucleotides» (Baer, H. P. y Drummond, G. I., eds.), Raven Press, Nueva York, 1979, pp. 3-32.
7. BURNSTOCK, G.: En «Mechanisms of Intestinal Secretion» (Binder, H. J., ed.), «Kroc Foundation Series», Alan Liss Inc., Nueva York, 1979. Vol. 12, pp. 147-174.
8. BURNSTOCK, G.: *J. Physiol.*, 131, 1-35, 1981.
9. BURNSTOCK, G.: Purinergic Receptors. Receptors and Recognition (Burnstock, G., ed.), Chapman Hall, Londres, 1981. Series B. Vol. 12.
10. GANDARIAS, J. M., AINZ, L. F., GIL-RODRIGO, C. E. y GOIRIENA, J. J.: Reunión «Primavera 81» de la Sociedad Española de Informática Médica (SEIM). Zaragoza, 1981. pp. 206-212.
11. GUSTAFSSON, L.: *Acta Physiol. Scand.*, 111, 263-268, 1981.

12. GUSTAFSSON, L., HEDQUIST, P., FREDHOLM, B. B. y OLUNDH, S.: *Acta Physiol. Scand.*, **102**, 69A, 1978.
13. LANGLEY, J. N.: *J. Physiol.*, **23**, 407-414, 1898.
14. LONDOS, C., WOLFF, J. y COOPER, A. M. F.: En «Physiological and Regulatory Functions of Adenosine and Adenine Nucleotides» (Baer, H. P. y Drummond, G. I., eds.), Raven Press, Nueva York, 1979, pp. 271-281.
15. LONDOS, C., WOPER, D. M. F., SCHLEGEL, W. y RODBELL, M.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **75**, 5362-5366, 1978.
16. VAN CALKER, D., MULLER, M. y HAMPRECHT, B.: *J. Neurochem.*, **33**, 999-1005, 1979.

