

VARIACIONES DE LA CONCENTRACION DE SODIO PLASMATICO
EN EL TELEOSTEO EURIHALINO «JENYNSIA LINEATA» (JENYNS, 1842)
LUEGO DEL PASAJE A SOLUCIONES HIPERTONICAS ¹

POR CELIA GLUZMAN DE PASCAR

ABSTRACT

The mechanism of secondary or differed regulation of a possible hormonal origin in the eurvaline teleost *Jenysia lineata* (Jenyns, 1842) is studied in an attempt to determine if the *Cyprinodontiformes* constitute a peculiar group of eurvalines.

The results obtained mark an increase —statistically significative— of osmotic pressure and, or the concentration of plasmatic Na in the first hours after the passing of hipertonic solutions and also a gradual decline towards values quite near to those characteristic of fresh water.

The possible mechanism that are responsible for the excretion of Na excess are considerate.

I. INTRODUCCION

Recientemente ha sido demostrado que el epitelio branquial de algunos peces eurihalinos tales como el lenguado (*Platichthys flesus*) y la angila (*Anguilla anguilla*) poseen la capacidad de pasar instantáneamente del intercambio rápido y excreción de sales que ocurre en agua de mar, al mecanismo caracterizado por un lento intercambio y captación de sales que se encuentra en los animales de agua dulce (Motais, 1961, Motais, García Romeu y Maetz, 1965, 1966). Los mismos

Este trabajo de Seminario fue realizado durante el año 1965-1966 en el Laboratorio de Ictiofisiología a cargo del Dr. Federico García Romeu.

autores han demostrado que esta disminución instantánea de los flujos de salida luego del pasaje a agua dulce o soluciones hipotónicas es producido por un mecanismo de "exchange diffusion" (difusión por intercambio) y que luego de cierto lapso un segundo mecanismo, posiblemente hormonal, completa la impermeabilización del epitelio branquial y los cambios fisiológicos que permiten la adaptación completa al agua dulce. En estos peces eurihalinos los cambios de agua de mar a agua dulce son seguidos, a causa de estos dos mecanismos de ajuste, por variaciones poco significativas de la concentración iónica del plasma. En otro teleósteo eurihalino, el ciprinodontiforme *Fundulus heteroclitus*, el pasaje es seguido por variaciones importantes del Na plasmático; en este animal no existe la regulación instantánea tan notable en el lenguado y la anguila y sólo posee la regulación secundaria o diferida de posible origen hormonal (Motais, García Romeu y Maetz, 1966).

No es posible decidir por el momento si todos los ciprinodontiformes poseen sólo el mecanismo de regulación diferida. Con el fin de estudiar este problema, determinar si los ciprinodontiformes constituyen un grupo particular de eurihalinos y profundizar el conocimiento de sus mecanismos de regulación hemos emprendido una serie de investigaciones de la cual se dan en este trabajo algunos resultados.

II. MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este trabajo se emplearon ejemplares adultos de *Jenynsia lineata* (Jenyns, 1842) de un peso de aproximadamente 2 gramos, pescados en la laguna de Chascomús (Provincia de Buenos Aires). A su llegada al laboratorio se los colocó en acuarios grandes con agua de canilla y fueron alimentados con trozos de lombrices hasta el día en que se dio comienzo a la experiencia, momento a partir del cual no recibieron alimento. La temperatura del agua en el laboratorio fue de 18°C.

La experiencia se dio por iniciada en el momento del pasaje de los animales a acuarios con 5 litros de la solución salina (Tabla I) cuya concentración de sodio fue de 342 mEq/l. En cada acuario fueron colocados seis peces. Igual número de testigos fueron pasados a acuarios semejantes con cinco litros de agua de canilla cuya concentración de sodio varió entre 2,2 y 8,7 mEq/l.

TABLA I

Composición, en gramos por litro, de la solución hipertónica utilizada

ClNa.....	19,995
Cl ₂ Mg.....	5,040
Cl ₂ Ca.....	1,235
ClK.....	0,375
SO ₄ Mg.....	4,365
BrNa.....	0,015

A los animales en la solución salina y a sus correspondientes testigos se les extrajo sangre a las 24, 48, 72 ó 144 (6 días) horas. Para ello, los peces fueron abiertos a lo largo de la línea media ventral y fijados mediante alfileres a una plancha de parafina. Bajo la lupa se diseccionó y expuso el tronco arterial en el que se insertó un tubo capilar de punta aguzada; la sangre asciende espontáneamente. Como anticoagulante se utilizó una solución de oxalato de amonio al 1%, con la que fueron previamente impregnados los capilares. Una vez terminada la extracción de la muestra el extremo del capilar más alejado de la columna de sangre se selló a la llama, teniendo especial cuidado de que el calentamiento fuera localizado. Luego los capilares fueron centrifugados en una centrifuga para microhematocrito durante cinco minutos, tras lo cual el tubo se seccionó a la altura de la línea de separación entre los elementos figurados y el plasma. Este último fue depositado en un tubo plástico, se pesó y se diluyó entre 500 y 1000 veces con agua destilada. La dilución real alcanzada fue calculada teniendo en cuenta el peso del plasma y el peso del agua agregada. De cada ejemplar se obtuvo una cantidad de plasma que varió entre 2 y 10 mg. La determinación de la concentración de sodio se hizo por fotometría de llama en un espectrofotómetro de llama Jovin-Yvon.

Como se comprobó que la concentración de Na plasmático de los diferentes grupos de testigos no presentaba diferencias estadísticamente significativas todos los testigos fueron tratados como un solo grupo para el análisis de los resultados experimentales.

III. RESULTADOS

TABLA II

Concentración de Na plasmático (Na) en mEq/l (media \pm error standard) en animales de agua dulce y luego de tiempos variables en la solución hipertónica. N : número de animales

Agua dulce		Agua salada		
Na	N	Días de perman.	Na	N
140,0 \pm 9,5	25	1.....	180,3 \pm 6,4	11
		2.....	159,4 \pm 5,8	5
		3.....	152,8 \pm 8,6	6
		6.....	153,0 \pm 6,3	5

La Tabla II resume los resultados obtenidos. A las 24 horas del pasaje a la solución hipertónica la concentración del sodio plasmático ha sufrido un aumento estadísticamente significativo de aproximadamente un 30 % pero las muestras sucesivas correspondientes a las 48, 72 y 144 horas luego del pasaje ponen de manifiesto una disminución progresiva de la concentración de sodio plasmático y una vuelta a los valores típicos de agua dulce (fig. 1).

Los datos experimentales sugieren que:

1. Existe un proceso regulatorio que hace tender la concentración de sodio plasmático hacia un cierto valor de equilibrio ($[Na]_{eq}$) que parece coincidir con la de los animales de agua dulce (140 mEq/l).

2. La velocidad de excreción (V_{exc}) del exceso de sodio sobre el nivel de equilibrio es función del tiempo.

Para deducir un modelo se plantea la hipótesis menos general de que la velocidad de excreción es directamente proporcional al exceso de sodio sobre el nivel de equilibrio ($[Na]_t - [Na]_{eq}$):

$$V_{exc} = k ([Na]_t - [Na]_{eq}) \quad (1)$$

siendo $[Na]_t$ la concentración de sodio en el tiempo t después del pasaje, $[Na]_{eq}$ la concentración de sodio para t tendiendo a infinito y k constante. Resolviendo esta ecuación diferencial resulta:

$$[Na]_t - [Na]_{eq} = ([Na]_0 - [Na]_{eq}) e^{-kt} \quad (2)$$

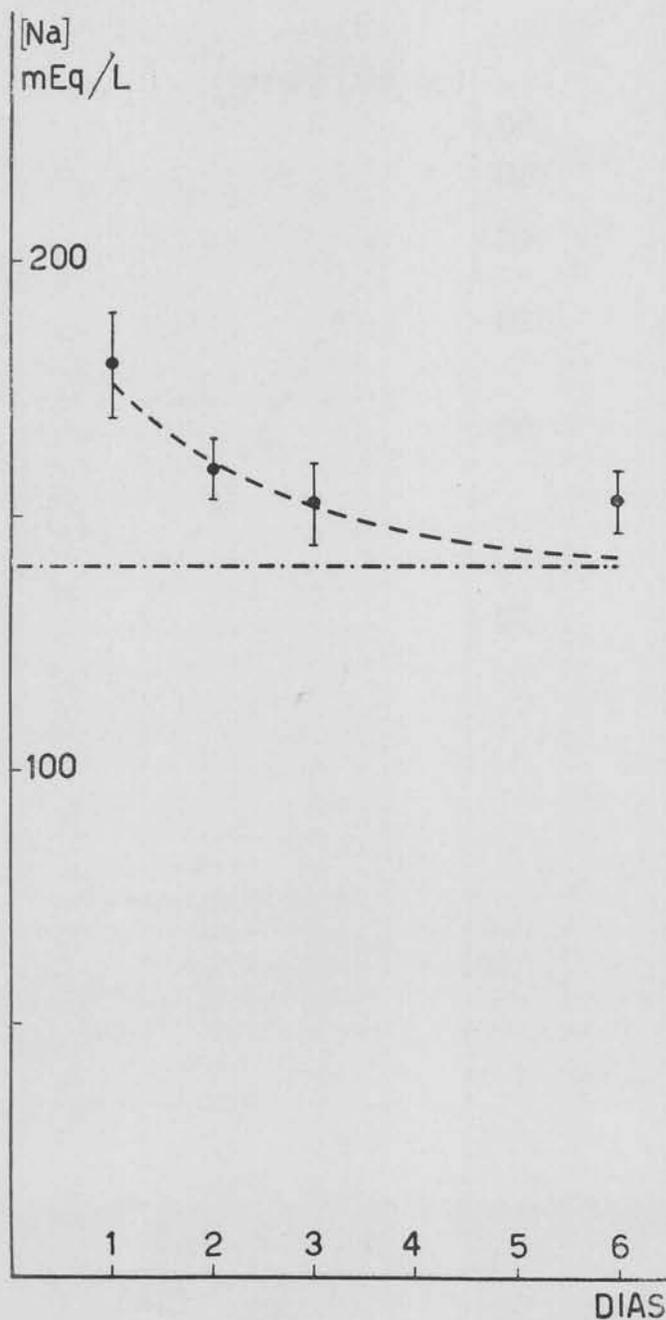


Fig. 1 — Concentración de Na plasmático en mEq/l (media \pm E. S) en función del tiempo transcurrido luego del pasaje a la solución hipertónica. Concentración de Na plasmático en animales de agua dulce en línea punteada.

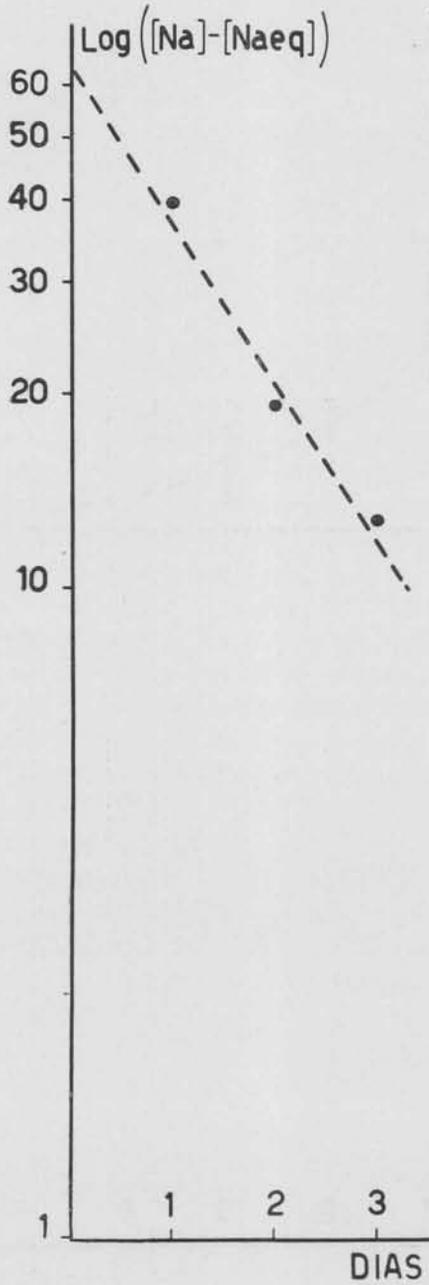


Fig. 2. $-\log (Na_t - Na_{eq})$ en función del tiempo. Ver explicación en el texto

siendo $[Na]_0$ la concentración de sodio en el tiempo 0 del pasaje y e la base de los logaritmos naturales.

Con el objeto de verificar el ajuste de los datos con la ecuación propuesta se representó $\log ([Na]_t - [Na]_{eq})$ en función del tiempo (fig. 2) comprobándose un acuerdo muy satisfactorio para tres de los cuatro puntos.

Gráficamente se calculó el valor de k y de $[Na]_0$ cuyos valores resultaron ser 0,106 y 203 mEq/l respectivamente, así como la constante de desaparición del exceso de sodio del compartimiento extracelular que resulta ser del 56 % por día.

IV. DISCUSION

En distintos teleósteos eurihalinos ha sido descrito un aumento de la presión osmótica y/o de la concentración de Na y Cl plasmático luego del pasaje a soluciones hipertónicas, así como un paulatino descenso hacia valores próximos a los característicos en agua dulce (ver Gordon., 1959a, 1959b; Parry., 1960, 1961; Stanley y Fleming, 1964, 1965). En *Jenynsia lineata* el proceso se desarrolla de manera semejante.

El ascenso importante de la concentración de sodio en el transcurso de las primeras horas luego del pasaje es determinado por razones diferentes pero concurrentes: deshidratación, aumento importante del flujo de entrada por difusión pasiva de iones y retardo en la aparición de los nuevos mecanismos reguladores. Motais y Maetz (1964) han demostrado en el lenguado *Platichthys flesus* que el pasaje de agua dulce a agua de mar determina un aumento del flujo de salida de sodio y que el tiempo transcurrido hasta que ese flujo de salida alcanza los valores de equilibrio para la nueva situación es función de la duración de la permanencia del pez en agua dulce: a una corta permanencia sigue un aumento rápido del flujo de salida, mientras que luego de permanencias largas el flujo de salida alcanza los nuevos valores de equilibrio sólo después de varias horas. En esta última situación los eurihalinos que poseen una regulación instantánea y otra diferida y los que sólo poseen esta última (Motais, García Romeu y Maetz, 1966) han de comportarse de manera semejante ante el pasaje, sufriendo aumentos más o menos importantes de la concentración plasmática; las razones de esta ausencia de regulación instantánea para animales que la tienen para el pasaje inverso (Agua de mar-Agua dulce) han sido discutidas por los autores antedichos.

En *Jenynsia lineata* un análisis de las variaciones de concentración del sodio plasmático en función del tiempo luego del pasaje permite señalar algunas características adicionales del fenómeno que posiblemente sean comunes a otros eurihalinos. La existencia de una función exponencial relacionando las dos variables indica que el sodio adicional es excretado por intermedio de mecanismos cuya actividad es determinada por la magnitud del exceso con respecto a los valores de agua dulce ($[Na]_{eq}$).

Los mecanismos excretores responsables de esta parte del fenómeno deben alcanzar una velocidad máxima de excreción cuando $[Na]_t$ alcanza un valor máximo y disminuir proporcionalmente a la disminución de $[Na]_t$ para llegar al nuevo estado estacionario ("steady state") cuando $[Na]_t = [Na]_{eq}$. Por el momento no poseemos datos que permitan aclarar si los mecanismos branquiales de excreción cumplen estas condiciones. En cuanto a la vía renal de excreción, recientes datos de Stanley y Fleming (1964, 1965) permitirían asignarle una señalada importancia durante el primer período del pasaje. Estos autores han demostrado por primera vez en un teleosteo que el Ciprinodontiforme *Fundulus kansae* es capaz de excretar una orina hipertónica con respecto a la sangre durante varios días luego del pasaje a agua de mar. El desarrollo del fenómeno cumple con los requisitos que hemos señalado. Los datos que dan estos autores para la presión osmótica del plasma en función del tiempo (fig. 6, op. cit., 1965) siguen un comportamiento semejante al señalado por nosotros para las variaciones de la concentración de sodio plasmático en función del tiempo en *Jenynsia lineata*. Es posible que el mecanismo descrito por Stanley y Fleming sea común entre los eurihalinos.

Recalculando sus datos sobre concentración plasmática de sodio en agua dulce y luego de tres días del pasaje a agua de mar (Stanley y Fleming, 1964: Tablas I y II) y considerando un espacio de sodio del 33 % (Maetz, 1956; Motais y Maetz, 1965) se tiene para este último caso un aumento de sodio de 23 mEq/Kg con respecto al sodio de un animal de agua dulce mientras que la excreción de sodio por orina es de 2,4 mEq/Kg o sea aproximadamente el 10 % del exceso de sodio, cifra no despreciable. Es posible por lo tanto que la habilidad de excretar una orina hipertónica tenga un importante significado en los peces eurihalinos y aunque transitoria, contribuye o sea el único mecanismo encargado de excretar el exceso de sodio consecuente al retardo en la aparición de los mecanismos osmoreguladores con respecto a las fuerzas pasivas que producen una hipertonicidad del medio interno.

APENDICE

$$V_{\text{exc}} = k ([\text{Na}]_t - [\text{Na}]_{\text{eq}}) \quad (1)$$

$$V_{\text{exc}} = \frac{d}{dt} ([\text{Na}]_0 - [\text{Na}]_t) = \frac{d}{dt} [\text{Na}]_t \quad (2)$$

De (1) y (2)

$$\frac{d}{dt} [\text{Na}]_t = -k ([\text{Na}]_t - [\text{Na}]_{\text{eq}})$$

$$\frac{d [\text{Na}]_t}{[\text{Na}]_t - [\text{Na}]_{\text{eq}}} = -k dt$$

Integrando

$$\ln C ([\text{Na}]_t - [\text{Na}]_{\text{eq}}) = -kt$$

$$([\text{Na}]_t - [\text{Na}]_{\text{eq}}) = A e^{-kt}$$

Para

$$t = 0, \quad [\text{Na}]_t = [\text{Na}]_0 \text{ resulta}$$

$$([\text{Na}]_0 - [\text{Na}]_{\text{eq}}) = A$$

Por lo tanto

$$[\text{Na}]_t - [\text{Na}]_{\text{eq}} = ([\text{Na}]_0 - [\text{Na}]_{\text{eq}}) e^{-kt}$$

BIBLIOGRAFIA

- GORDON, M. S., 1959. *Osmotic and ionic regulation in Scottish brown and sea trout (Salmo trutta L.)*. J. Exp. Biol., 36: 227-252.
- 1959a. *Ionic regulation in the brown trout (Salmo trutta L.)*. J. Exp. Biol., 36: 253-260.
- 1959b. *Rates of exchanges of chloride ions in rainbow trout (Salmo gairdneri) acclimated to various salinities*. Anat. Rec., 134: 571-572.
- FLEMING, W. R. y STANLEY, J. G., 1965. *Effects of rapid change in salinity on the renal function of a euryhaline teleost*. Am. J. Physiol. 209: 1025-1030.
- MAETZ, J., 1956. *Les échanges de sodium chez le poisson "Carassius auratus" L. Action d'un inhibiteur de l'anhydrase carbonique*. J. Physiol. (Paris), 48: 1085-1099.
- MOTAIS, R., 1961. *Les échanges de sodium chez un téléostéen euryhalin "Platichthys flesus flesus" L.: cinétique de ces échanges lors des passages d'eau de mer en eau douce en eau de mer*. C. R. Acad. Sc. Paris, 253: 724-726.

- MOTAIS, R. y MAETZ, J., 1964. *Action des hormones neurohypophysaires sur les échanges de sodium (Mesuré a l'aide du radio-sodium Na^{24}) chez un téléostéen euryhalin: "Platichthys flesus" L.* Gen Comp. Endocrin., 4: 210-224.
- MOTAIS, R. y MAETZ, J., 1965. *Comparaison des échanges de sodium chez un Téléostéen euryhalin (le flet) et un Téléostéen sténohalin (le Serran) en eau de mer. Importance relative du tube digestif et de la branchie dans ces échanges.* C. R. Acad. Sc. Paris, 26: 532-535.
- MOTAIS, R., GARCÍA ROMEU, F. y MAETZ, J., 1965. *Mécanisme de l'euryhalinité. Étude comparée du Flete (euryhalin) et du Serran (sténohalin) au cours du transfert en eau douce.* C. R. Acad. Sc. Paris, 261: 801-804.
- MOTAIS, R., GARCÍA ROMEU, F. y MAETZ, J., 1966. *Exchange diffusion effect and eurihalinity in Teleosts.* J. Gen Physiol. (en prensa).
- PARRY, G., 1960. *The development of salinity tolerance in the salmon (Salmo salar L.) and some related species.* J. Exp. Biol., 37: 425-434.
- 1961. *Osmotic and ionic changes in blood and muscle of migrating salmonids.* J. Exp. Biol., 38: 411-427.
- STANLEY, J. G. y FLEMING, W. R., 1964. *Excretion of hipertonic urine by a teleost.* Science, 144: 63-64.