

1) INTRODUCCION

Los organismos presentan un volumen y concentración iónica que generalmente es diferente a la del medio ambiente circundante. Por este motivo, las diferencias en la concentración tienden a disiparse hasta el estado estacionario. Los animales minimizan las dificultades disminuyendo los gradientes o disminuyendo la permeabilidad. Sin embargo, siempre existen fugas iónicas que han de compensarse con mecanismos que gastan energía.

Los peces teleósteos son animales osmorreguladores, que mantienen una osmolaridad constante en su medio interno independiente de la osmolaridad existente en el medio externo. De este modo, los teleósteos deben de lograr el:

- a) Mantenimiento de una apropiada cantidad de agua.
- b) Mantenimiento de una apropiada concentración de solutos.

Los mecanismos osmorreguladores de los teleósteos implican a un alto número de órganos osmorreguladores, cuya actividad se encuentra controlada por diversas hormonas hipofisarias y extrahipofisarias. La actividad de dichos órganos osmorreguladores es diferente según el animal se encuentre en un ambiente hipoosmótico o hiperosmótico. Dentro de las estructuras osmorreguladoras de los teleósteos destacamos:

- a) Células de cloruro del epitelio branquial y opercular
- b) Tracto digestivo
- c) Riñón

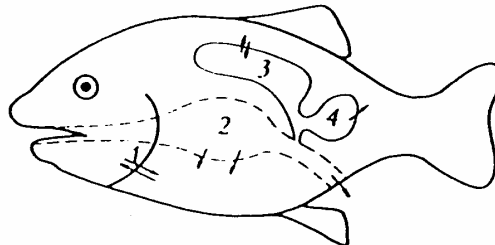


Figura 1. Organos osmorreguladores en teleósteos. El epitelio branquial y opercular (1) es el principal lugar para el intercambio iónico. El tracto digestivo (2) es importante para la captación de iones y de agua. El riñón (3) funciona principalmente para eliminar el exceso de agua, aunque también existen captación/eliminación de iones. En algunas especies la vejiga urinaria puede ser importante para el balance de agua y/o iones (tomado de Norris, 1997).

2) BRANQUIAS Y OPERCULO

La branquia es un órgano que posee diferentes funciones, entre ellas destacan: intercambio gaseoso, osmorregulación, excreción de productos nitrogenados, equilibrio ácido-base, etc.

El epitelio branquial presenta dos tipos celulares básicos: a) células epiteliales o pavimentosas, y b) células de Keys-Willmer (también llamadas ionocitos o células de cloruro). Las células epiteliales presentan escaso grosor y están adaptadas para facilitar el intercambio gaseoso con el medio. Igualmente parecen jugar un papel importante en la excreción de residuos nitrogenados y en el equilibrio ácido-base. A nivel osmorregulador, se ha demostrado en ambientes hipoosmóticos una función de estas células en la captación de Cl^- .

Las células de cloruro están claramente relacionadas con la excreción/captación de iones monovalentes (Na^+ y Cl^-), así como en la captación de iones Ca^{++} . Estas células se localizan en el epitelio de los filamentos branquiales, en la base de las lamelas. En algunas especies, como *Fundulus heteroclitus*, también son abundantes en el epitelio opercular ($40000 \text{ células/cm}^2$). Las células de cloruro se caracterizan por su gran tamaño, abundantes mitocondrias, profundas invaginaciones de las membranas basal/lateral y por la posesión de una caveola apical. Basalmente contactan con vasos sanguíneos y apicalmente con el agua de mar.

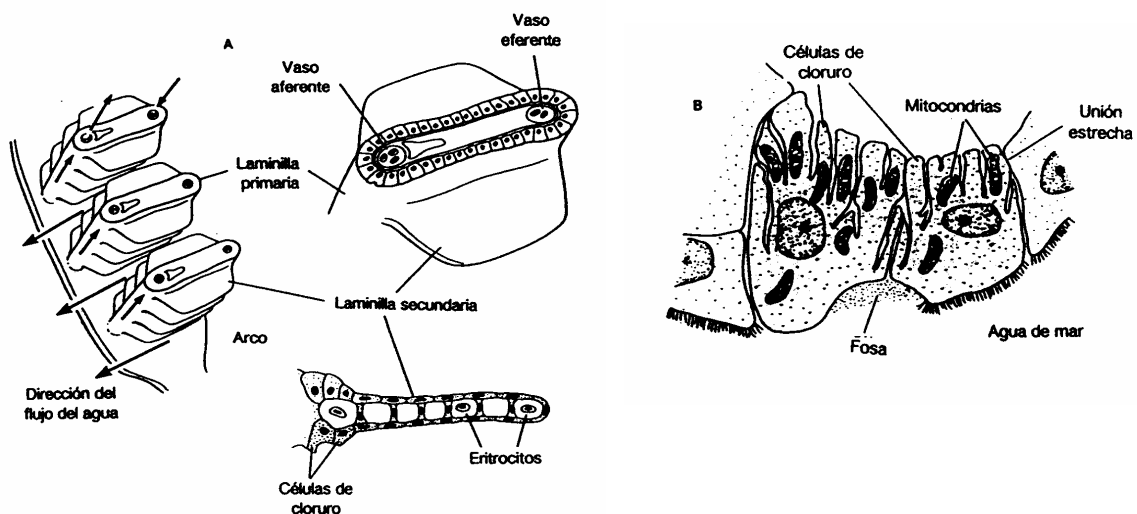


Figura 2. Esquema de las branquias de teleósteos. (A) Las laminillas primarias branquiales se proyectan a partir del arco branquial. Las laminillas secundarias se extienden a partir de las primarias y contienen anchos espacios por los que circula la sangre. (B) Dibujo de una célula de cloruro rodeada por células epiteliales respiratorias. Las células de cloruro se caracterizan por su elevado número de invaginaciones a nivel lateral y basal, así como por un alto número de mitocondrias (tomado de Eckert et al., 1990).

La dirección del transporte de iones a través del epitelio branquial cambia como consecuencia de la adaptación a ambientes de diferente salinidad. La adaptación fisiológica es un proceso gradual que implica destrucción y síntesis de componentes moleculares de los sistemas de transporte, así como cambios en la morfología y número de células de cloruro. La adaptación a ambientes de mayor salinidad origina:

- aparición de caveolas apicales.
- incremento en el número y tamaño de células.
- incremento en la expresión génica y actividad bioquímica de la bomba Na^+, K^+ -ATPasa.
- incremento en la expresión génica y actividad del cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$.
- aumento del espacio extracelular por desarrollo de las invaginaciones basales.

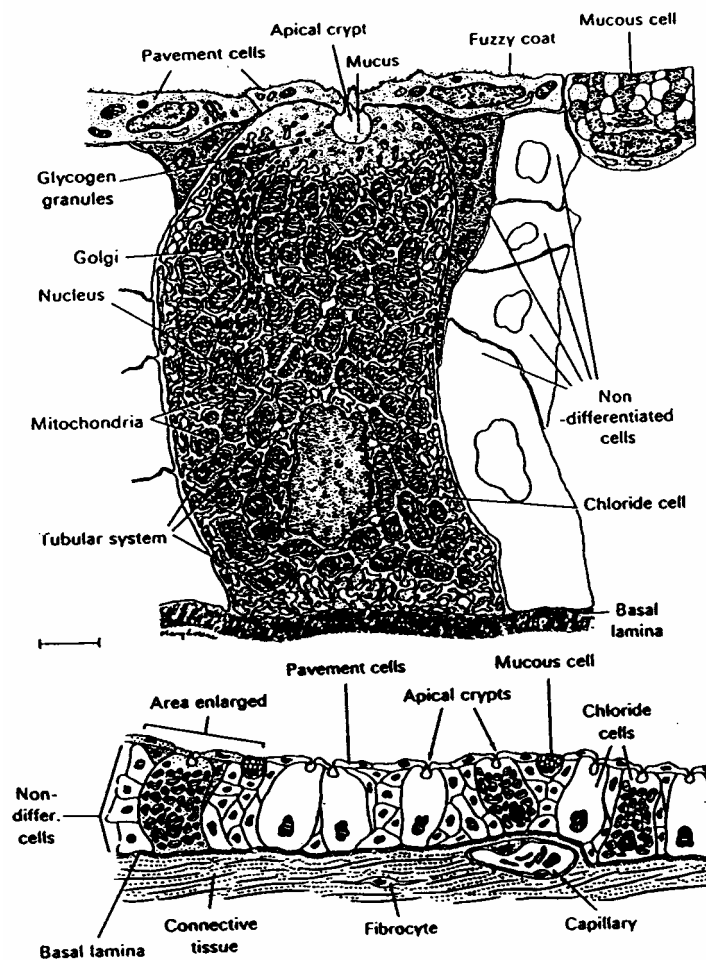


Figura 3. Esquema de la ultraestructura del epitelio opercular de *Fundulus heteroclitus*, donde se muestra las células de cloruro, idénticas a las encontradas en el epitelio branquial (tomado de Zadunaisky, 1984).

Funcionamiento de las células de cloruro en ambientes hiperiónicos

A partir del estudio de las células de cloruro del epitelio opercular (mediante la técnica de corriente de cortocircuito usando la cámara de Ussing) se ha propuesto el siguiente modelo para la excreción del ClNa:

- La fuerza conductora primaria de este modelo es una ATPasa dependiente de Na^+/K^+ (actividad Na^+/K^+ -ATPasica) que se localiza en la membrana basolateral de la célula de cloruro, creando un fuerte gradiente de Na^+ , con altas concentraciones en el lado serosal y bajas concentraciones en el interior celular.
- La energía de este gradiente es utilizada por un cotransportador de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ (del tipo de NKCC 1), que acumula Cl^- en el medio intracelular.
- El Cl^- abandona la célula pasivamente, a través de canales específicos (del tipo de CFTR) localizados en la membrana apical. La permeabilidad de estos canales iónicos podría estar regulada por los niveles intracelulares de AMPc, que, a su vez, fluctúan en respuesta a la interacción de determinadas hormonas con sus receptores específicos localizados en la membrana basolateral.
- El Na^+ atraviesa el epitelio pasivamente, por la vía paracelular, guiado por el gradiente de potencial transepitelial (exterior negativo, interior positivo; 10 a 35 mV) establecido por el transporte de Cl^- .
- Una bomba Ca^{++} -ATPasa localizada a nivel basolateral de la célula, generaría un gradiente químico que atraería iones Ca^{++} hacia el interior de la célula a través de canales Ca^{++} apicales. Además, la existencia de sistemas de intercambio iónico $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ a nivel basolateral ayudaría a introducir Ca^{++} en el medio interno.

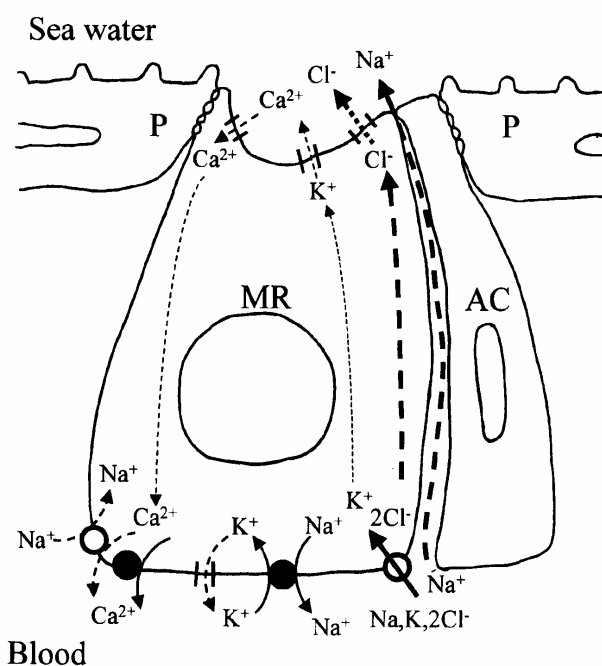


Figura 4. Modelo de excreción de iones en teleósteos aclimatados a agua de mar (tomado de Marshall, 2002).

Funcionamiento de las células de cloruro en ambientes hipoiónicos

Los teleósteos dulciacuícolas sufren una pérdida de sales, de este modo, el animal debe de reponer las sales por dos vías principales:

- el alimento
- captación activa de iones monovalentes a través de las branquias, merced a sistemas de intercambios iónicos localizados en las células de cloruro o células pavimentosas.

En teleósteos aclimatados a ambientes hipoosmóticos, la captación activa de iones monovalentes se realiza a través:

i) células de cloruro, donde existe un transporte de Na^+ , Cl^- y Ca^{++} . De este modo:

- Una bomba H^+ -ATPasa generaría un gradiente electroquímico favorable para la captación pasiva de Na^+ mediante un canal Na^+ . Tanto la bomba H^+ -ATPasa como el canal Na^+ están localizados en la porción apical de la célula.
- Un intercambiador $\text{Cl}^-/\text{CO}_3\text{H}$, a nivel apical, ayudaría a introducir Cl^- en la célula. Este Cl^- posteriormente pasaría al medio interno por canales Cl^- (similares a los canales CFTR) existentes en la porción basolateral de la célula.
- Una bomba Na^+/K^+ -ATPasa, localizada en la porción basal de la célula, ayudaría al transporte del Na^+ intracelular hasta el medio interno.
- Una bomba Ca^{++} -ATPasa localizada a nivel basolateral de la célula, generaría un gradiente químico que atraería iones Ca^{++} hacia el interior de la célula a través de canales Ca^{++} apicales. Además, la existencia de sistemas de intercambio iónico $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ a nivel basolateral ayudaría a introducir Ca^{++} en el medio interno.

ii) células pavimentosas, donde sólo existe transporte de Cl^- unido a la secreción de CO_3H . De este modo, un intercambiador $\text{Cl}^-/\text{CO}_3\text{H}$, a nivel apical, ayudaría a introducir Cl^- en la célula. Este Cl^- posteriormente pasaría al medio interno por canales Cl^- existentes en la porción basolateral de la célula. Un intercambiador Na^+/H^+ a nivel basolateral evitaría la acidificación del medio intracelular de la célula pavimentosa.

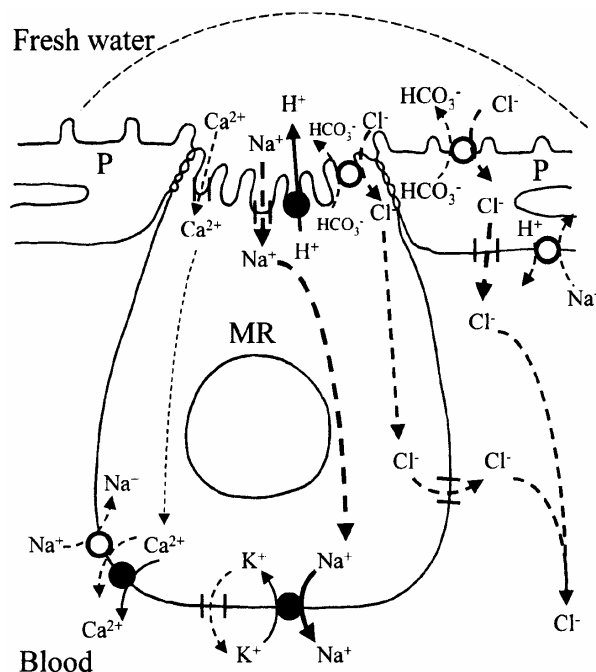


Figura 5. Modelo de captación de iones en teleósteos aclimatados a agua dulce (tomado de Marshall, 2002).

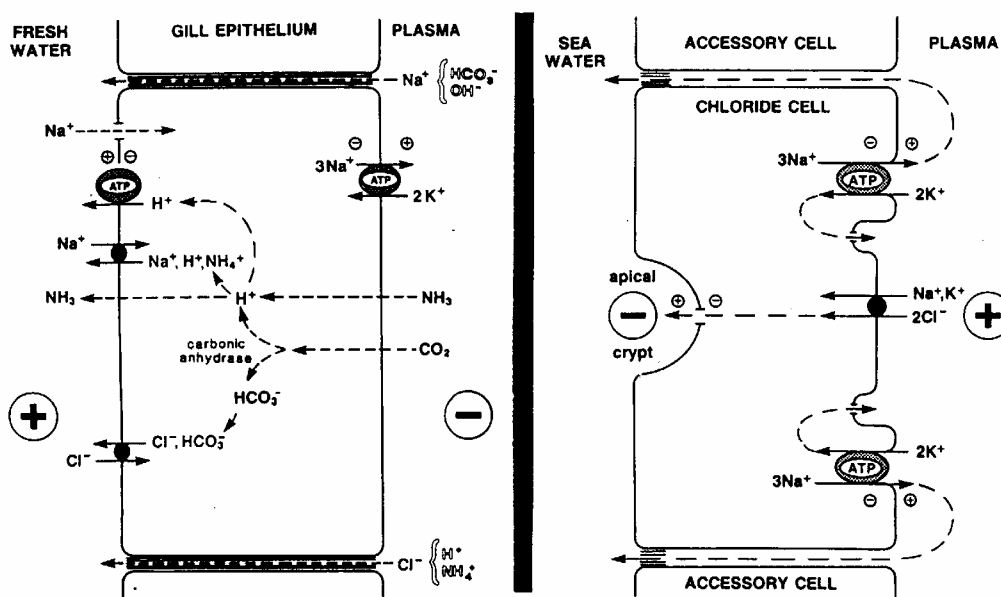


Figura 6. Modelos bioquímicos que explican la captación de iones a nivel branquial en animales adaptados a ambientes hipoiónicos y la excreción de iones a nivel branquial en animales adaptados a ambiente hiperiónicos (tomado de Avella y Bornancin M., 1990).

3) TRACTO DIGESTIVO

El tracto digestivo es un órgano con importantes funciones osmorreguladoras en teleósteos marinos, siendo su papel osmorregulador menor en teleósteos dulciacuícolas. De este modo: i) en animales adaptados a ambientes hiperosmóticos, el tracto digestivo presenta un transporte activo de sales que origina una posterior captación osmótica de agua, y ii) en animales adaptados a ambientes hipoosmóticos, ocurre un transporte activo de sodio pero sin captación de agua.

Funcionamiento del tracto digestivo en ambientes hiperiónicos

Los teleósteos marinos presentan una pérdida branquial y urinaria de agua (0.5 % del peso corporal por hora en salmónidos) muy importante. De este modo, estos teleósteos deben beber grandes volúmenes de agua para compensar la pérdida hídrica. La absorción de agua en el intestino requiere un transporte previo de sales, ya que es imposible la ósmosis desde un medio concentrado (agua de mar) a otro más diluido (medio interno del animal). Este proceso es esencial para el mantenimiento del volumen hídrico corporal, pero provoca una acumulación adicional de iones monovalentes que han de ser excretados por las células de cloruro, con el consiguiente gasto energético.

En las especies marinas la región anterior del esófago es un epitelio grueso estratificado, con numerosas células mucosas, que cubre un conjuntivo pobremente vascularizado. Este epitelio es impermeable al agua e iones. Sin embargo, caudalmente el esófago estratificado es reemplazado por un epitelio simple, columnar y con pliegues y microvilli (para aumentar su superficie), y que posee amplios espacios intercelulares y una intensa vascularización en el conjuntivo subyacente. En este tramo del esófago tiene

lugar una difusión pasiva de una gran cantidad de iones (Na^+ y Cl^- principalmente: del 50 al 70% de los iones son absorbidos en este tramo) pero sin difusión de agua. De este modo, en esta región se consigue una gran difusión pasiva de iones pero sin difusión de agua. Esto origina que el agua que llega al tramo anterior del intestino presente una concentración de sales similar a la existente en el medio interno del animal.

El epitelio intestinal tiene una estructura muy simple: es monoestratificado, columnar, con microvellosidades, amplios espacios intercelulares e invaginaciones de la membrana lateral. Sus células se unen apicalmente por uniones estrechas. En el tramo anterior del intestino se produce una absorción activa de sales por parte del epitelio intestinal y una absorción del agua por un proceso de ósmosis local.

Así, el transporte activo de iones e incorporación osmótica del agua sigue el modelo de tres compartimentos. En dicho modelo, es de suma importancia la actividad de transporte iónico de los enterocitos del epitelio intestinal y la existencia de espacios intercelulares entre estos enterocitos. El modelo para la captación de agua por parte del intestino implica a:

- i) bombas Na^+/K^+ -ATPasicas localizadas en la membrana basolateral (lado serosal) que generan un gradiente electroquímico para la captación del ión Na^+ hacia el interior de la célula y permiten el paso de este ión hacia los espacios intercelulares del epitelio;
- ii) bombas K^+/Cl^- localizadas en la membrana basolateral que generan un gradiente electroquímico para la captación de iones Cl^- y K^+ y permiten el paso de iones Cl^- hacia los espacios intercelulares del epitelio, además, la existencia de canales Cl^- en la membrana basolateral también facilita este paso;
- iii) los gradientes originados por las bombas Na^+/K^+ -ATPasa y K^+/Cl^- -ATPasa son la fuerza para la captación de Na^+ , K^+ y Cl^- gracias a un cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ existente en la membrana apical de los enterocitos (lado mucosal);
- iv) canales K^+ apicales que permiten la salida del exceso de K^+ hacia el lado mucosal.

En resumen, la actividad conjunta del sistema origina una excreción neta de Na^+ y Cl^- hacia los espacios intercelulares del epitelio, permeando el agua desde la luz del intestino hasta estos espacios intercelulares y desde allí difunden al interior del animal.

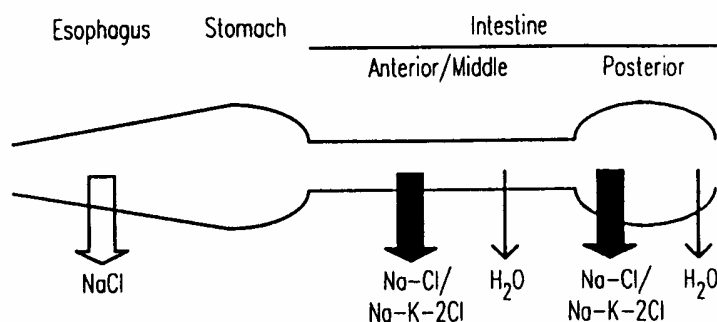


Figura 7. Transporte iónico en el tracto digestivo de teleósteos adaptados a ambientes hiperosmóticos. Flechas blancas: absorción pasiva de NaCl. Flechas negras: transporte activo de NaCl. Flechas delgadas: transporte pasivo de agua (tomado de Loretz, 1995).

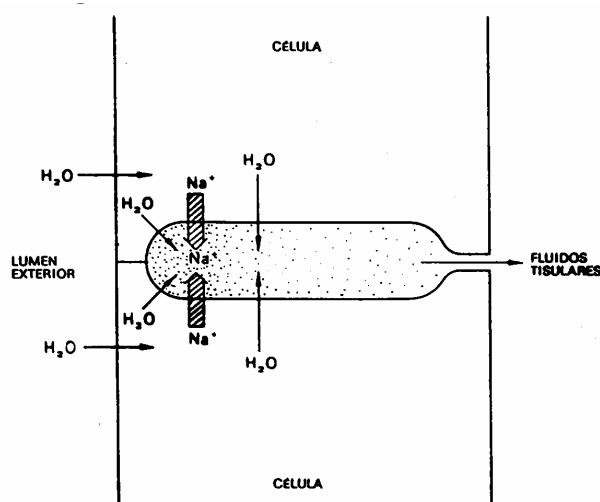


Figura 8. Mecanismo de captación de NaCl por parte del intestino de teleósteos marinos. Para explicaciones ver el texto (tomado de Schmit-Nielsen, 1983).

Funcionamiento del tracto digestivo en ambientes hipoiónicos

En teleósteos dulciacuícolas, el esófago es impermeable al agua y el tramo anterior del intestino es la región más importante para la captación de iones. En esta región se produce una absorción activa de sales por parte del epitelio pero sin absorción del agua. Los mecanismos bioquímicos implicados en esta captación activa de iones son poco conocidos, aunque la existencia de un modelo como el que presentan las células pavimentosas del epitelio branquial (con bombas Na^+, K^+ -ATPasas en el lado serosal y canales Na^+ y bombas H^+ -ATPasas en el lado mucosal) está aceptado. En este modelo, es importante la existencia de una estructura del epitelio intestinal que evite el transporte osmótico de agua que seguiría a la captación activa de iones.

4) RIÑÓN

En vertebrados el riñón es un órgano con diversas funciones: a) mantenimiento de concentraciones idóneas de iones y volumen corporal adecuado; y b) eliminación de productos finales del metabolismo, sustancias extrañas y de sus productos metabólicos. En peces teleósteos el funcionamiento del riñón (en su aspecto relacionado con la osmorregulación) va a depender de la salinidad del medio ambiente que rodee al animal.

Los mecanismos fisiológicos implicados en los procesos osmorreguladores del riñón están íntimamente relacionados con los procesos de formación de orina. Dichos mecanismos, implicarían movimientos de agua e iones asociados a los procesos de: i) filtración glomerular, ii) reabsorción tubular y iii) síntesis y secreción tubular. Los modelos bioquímicos que explicarían estos movimientos de agua e iones son complejos y depende de la región de la nefrona analizada. La explicación de dichos modelos escapan a la intención de este trabajo (ver Kinne, 1990; Beyenbach, 1995; Renfron, 1995).

Procesos implicados en la formación de orina

- 1) Filtración glomerular de agua y solutos no proteicos (cristaloides, Na^+ , K^+ , Cl^- , glucosa, urea).
- 2) Reabsorción tubular selectiva de sales y agua (99%), sobre todo en el túbulo contorneado proximal.
- 3) Síntesis tubular de ciertos compuestos de excreción en las células tubulares y el lumen tubular.
- 4) Secreción tubular selectiva, mediante transporte activo, responsable de la regulación de las concentraciones sanguíneas de K^+ , H^+ y bicarbonato así como de sustancias extrañas.

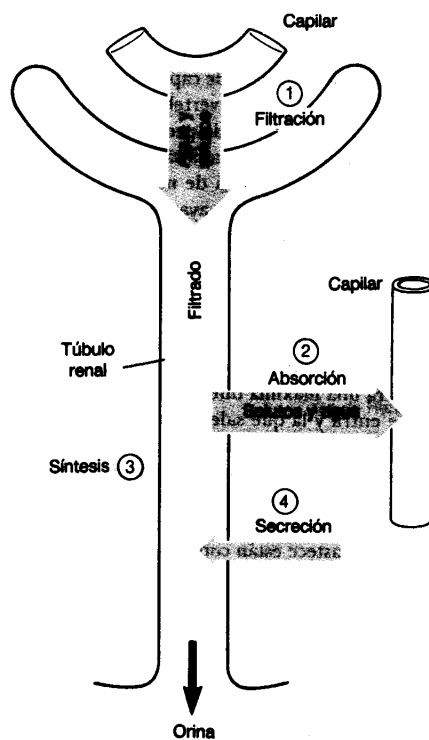


Figura 9. Procesos de formación de la orina (tomado de Eckert et al., 1990).

Funcionamiento del riñón en ambientes hipoosmóticos

Los teleósteos de agua dulce son hiperosmóticos respecto al agua dulce: deben eliminar el exceso de agua captada pasivamente y tratar de retener la máxima cantidad de iones posible. Las nefronas presentan glomérulos más grandes y en mayor número. El sistema de túbulos está menos desarrollado que en vertebrados superiores (aves y mamíferos), no presentando un sistema de contracorriente y dando una orina isoosmótica respecto al medio.

El animal utiliza el riñón para la excreción del exceso de agua, que actúa como una auténtica bomba de agua. El riñón posee un elevado número de nefronas, con una alta tasa de filtración glomerular y una baja tasa de reabsorción tubular de agua, por lo que produce un gran volumen de orina muy diluida.

El riñón, en los peces de agua dulce es un órgano esencial para la regulación del volumen líquido; sin embargo, el elevado flujo de orina origina una importante pérdida renal de sales, a pesar de que más del 90% de los iones monovalentes filtrados son reabsorbidos por el epitelio de los túbulos renales y de la vejiga urinaria. En *Carassius* se ha calculado que la pérdida urinaria de sales es del 8% del contenido corporal total por día, lo que supera ampliamente a las pérdidas por difusión.

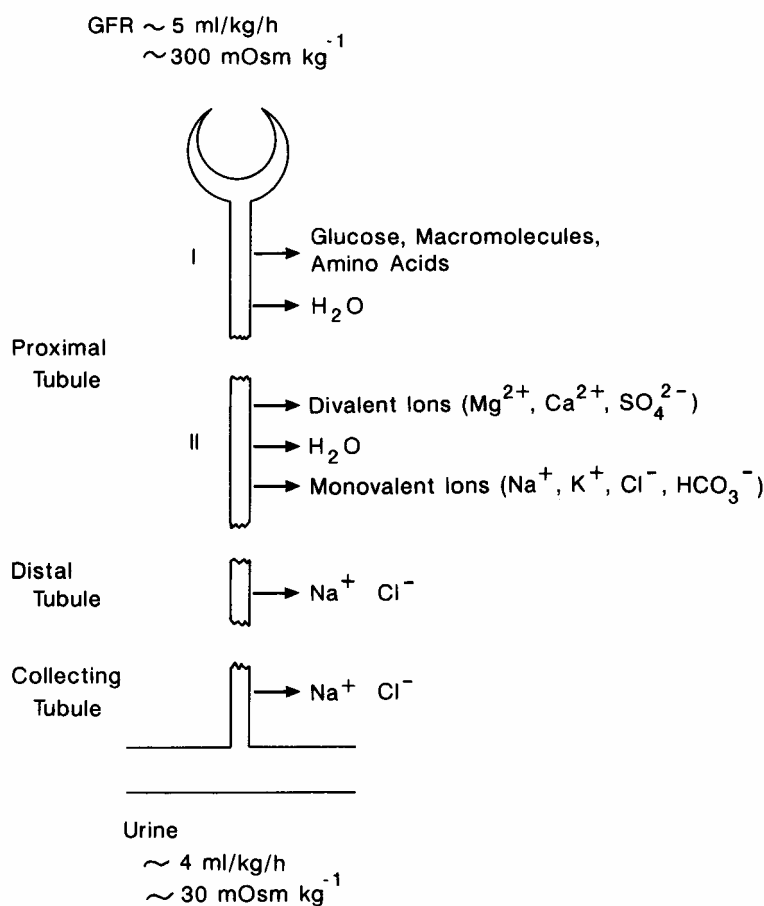


Figura 10. Procesos de absorción y secreción en la nefrona de un teleósteo de agua dulce. GFR: rango de filtración glomerular (tomado de Jobling, 1995).

Funcionamiento del riñón en ambientes hiperosmóticos

Los teleósteos marinos son hipoosmóticos respecto al agua de mar: deben eliminar el exceso de iones captados pasivamente y retener la máxima cantidad de agua posible. Las nefronas son aglomerulares (no glomérulo/capsula de Bowman). La orina se produce por secreción y quizás absorción, pero no filtración. La cantidad de orina es muy pequeña (así evita pérdida de agua).

El riñón de los teleósteos marinos desempeña un papel relativamente insignificante en la excreción de iones monovalentes, ya que la tasa de producción de orina es muy baja, lo que, por otra parte, resulta esencial para la economía hídrica de estos animales hipoosmóticos. El número y el tamaño de los glomérulos están muy reducidos, e incluso en algunas especies, como el pez pescador, *Lophius piscatorius*, el riñón es completamente aglomerular.

La principal función del riñón de teleósteos marinos es, probablemente, la excreción de iones divalentes, que son secretados activamente por el epitelio de los túbulos renales. La orina es isosmótica con respecto al plasma, pero está enriquecida en iones divalentes, especialmente Mg^{2+} , Ca^{++} y SO_4^{2-} , que no son excretados por las branquias; a la secreción de estos iones acompaña agua, que fluye osmóticamente.

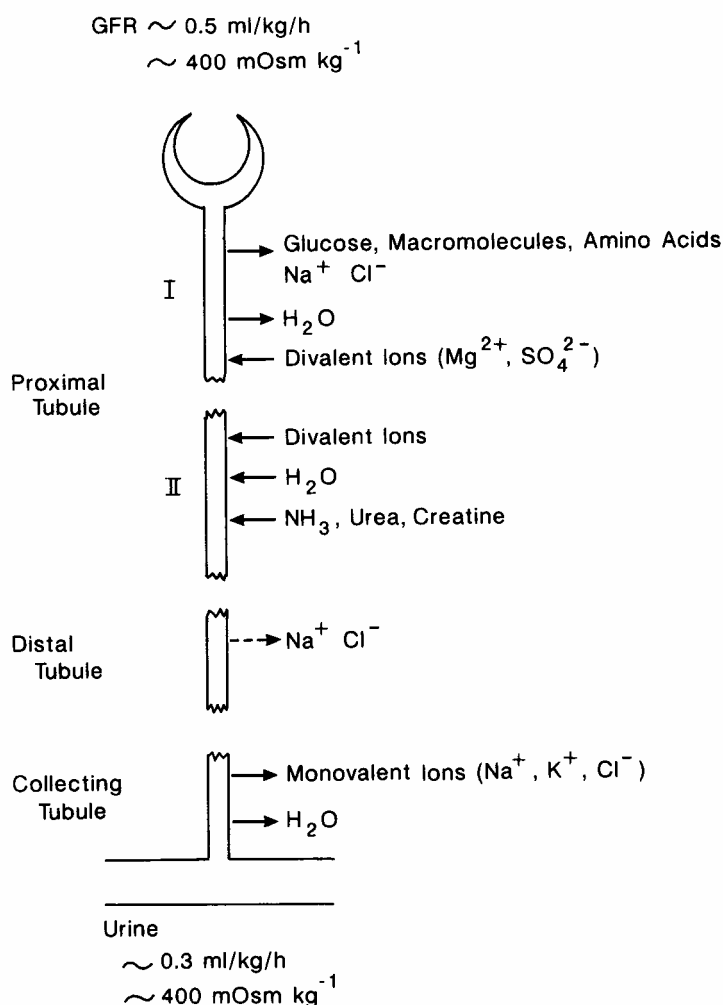


Figura 11. Procesos de absorción y secreción en la nefrona de un teleósteo de agua de mar. GFR: rango de filtración glomerular (tomado de Jobling, 1995).

5) BIBLIORAFIA

- Avella, M., and Bornancin M. (1990). Ion fluxes in the gills of freshwater and seawater salmonid fish. En: "Animal Nutrition and Transport Processes" (J.P. Truchet and B. Lahlou, Eds.), Vol. 2, pp. 1-13. Karger, Basel.
- Beyenbach K.W. (1995). Secretory electrolyte transport in renal proximal tubules of fish. En: "Fish Physiology", Vol. XIV, "Ionoregulation: Cellular and Molecular approaches" (C.M. Wood and T.J. Shuttleworth, Eds.), pp 85-106. Academic Press, New York.
- Ecker R., Randall D. and Augustine G. (1990). Fisiología Animal. Interamericana-McGraw-Hill.
- Evans D.H. (1993). Osmotic and ionic regulation. En: "The physiology of fishes" (D.J. Evans, Ed.). CRC, Press, Boca Raton.
- Goss, G., Perry, S., and Laurent, P. (1995). Ultrastructural and morphometric studies on ion and acid-base transport processes in freshwater fish. In "Fish Physiology", Vol. XIV, "Ionoregulation: Cellular and Molecular approaches" (C.M. Wood C.M. and T.J. Shuttleworth, Eds.), pp 257-284. Academic Press, New York.
- Hoar C.M. and Randall D.J., Eds (1984). "Fish Physiology" vol. XA and XB. Academic Press, New York.
- Jobling M. (1995). Environmental biology of fishes. Fish and Fisheries Series 16. Chapman & Hall, London.
- Kinne R.K.H. (1990). Urinary concentrating mechanisms. En: "Comparative Physiology", Vol. 2 (R.K.H. Kinne, E. Kinne-Saffran and K.W. Beyenbach, Eds.). Karger, Basel.
- Lin H. and Randall D.J. (1995). Proton pumps in fish gills. En: "Fish Physiology" (C.M. Wood and T.J. Shuttleworth T.J., Eds.), Vol. XIV, pp. 207-228. Academic Press, New York.
- Loretz C.A. (1995). Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. En: "Fish Physiology", Vol. XIV, "Ionoregulation: Cellular and Molecular approaches" (C.M. Wood and T.J. Shuttleworth, Eds.), pp. 24-56. Academic Press, New York.
- Marshall W.S. (2002). Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺ and Zn²⁺ transport by fish gills: retrospective review and prospective synthesis. *J. Exp. Zool.* 293: 264-283.
- Marshall W.S., and Bryson S.E. (1998). Transport mechanisms of seawater teleost chloride cells: an inclusive model of a multifunctional cell. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A, 97-106.
- Norris D.O. (1997). Vertebrate endocrinology. Academic Press.
- Pisam, M., and Rombourg, A. (1991). Mitochondria-rich cells in the gill epithelium of teleost fishes: An ultrastructural approach. *Int. Rev. Cytol.* 130, 191-232.
- Rankin J.C., Henderson I. W. and Brown J.A. (1983). Osmoregulation and the control of kidney function. En: "Control processes in fish physiology". (Rankin J.C., Pitcher T.J. and Duggan R.T., Eds.). Croom Helm, London&Canberra.
- Renfro J.L. (1995). Solute transport by flounder renal cells in primary culture. En: "Fish Physiology", Vol. XIV, "Ionoregulation: Cellular and Molecular approaches" (C.M. Wood and T.J. Shuttleworth, Eds.), pp 147-173. Academic Press, New York.
- Schmit-Nielsen K. (1983). Fisiología animal. Ediciones Omega, Barcelona.
- Zadunaisky J:A. (1984). The chloride cells: The active transport of chloride and the paracellular pathway. En: "Fish Physiology" (W.S. Hoar and D. Randall D., Eds.), Vol. XIB, pp. 275-343. Academic Press, New York.