



¿EXISTEN CAMBIOS ENTRE LA ABSORCIÓN HIDROELECTROLÍTICA EN EL INTESTINO DELGADO DE RATAS SANAS DE LABORATORIO Y RATAS INFECTADAS CON TOXINA COLÉRICA?

Dra. Ivette Rodríguez*
Dr. Ernesto A Mendoza*
Dra. Yolanda K Requena*
Dra. Yanira M Salcedo**
Dra. Rosxana M Párraga***
Dr. Charles M Pointud****

Resumen

Se conoce que la toxina colérica produce una modificación en el transporte de agua y electrolitos en el intestino delgado tanto de humanos enfermos como de animales experimentales como la rata, ocasionando una diarrea profusa.

El propósito de nuestro estudio es demostrar los efectos de la toxina colérica sobre el transporte de electrolitos a nivel del intestino delgado en un modelo experimental animal.

En el presente trabajo hemos empleado un modelo animal para observar los cambios en el movimiento electrolítico ocasionados por la toxina colérica a nivel del intestino delgado. Los resultados obtenidos demuestran que la toxina colérica actúa a nivel del cotransportador sodio/cloruro inhibiéndolo, de esta forma provoca una disminución de la absorción acoplada de sodio, cloruro y agua en las células de las vellosidades intestinales y actúa sobre el canal de cloruro activándolo, de esta manera ocasiona un aumento en la secreción de cloruro en las criptas de Lieberkühn del intestino delgado de ratas. A diferencia de los resultados anteriores, los cambios en el transporte de potasio no fueron significativos, por lo tanto, no se puede atribuir efecto de la toxina colérica sobre el transporte de potasio en el intestino delgado de ratas.

Con esto se concluye que la toxina colérica produce cambios en la absorción y secreción de agua y electrolitos a nivel del intestino delgado de ratas de laboratorio comparables a los cambios producidos en el intestino delgado de humanos infectados.

Palabras clave: Toxina colérica. Intestino delgado. Sodio. Cloruro. Potasio.

Abstract

A profuse diarrhea is known that the cholera toxin as much producers a modification in the transport of water and electrolytes in the small intestine of ill humans as of experimental animals like the rat, causing.

The intention of our study is to demonstrate the effects of the cholera toxin on the transport of electrolytes at level of the small intestine in an experimental animal model.

In the present work we have used an animal model to observe the changes in the electrolytic's movement caused by the cholera toxin on the small intestine. The obtained results demonstrate that the cholera toxin acts at level of the sodium/chloride cotransport inhibiting it, of this one form cause a decrease of the connected absorption of sodium, chloride and water in the intestinal villis' cells and also acts on the chloride channels chloride activating them, of this one way causes an increase in the chloride secretion chloride in Lieberkühn's crypts on the rats' small intestine. Unlike the previous results, the changes in the potassium transport were not significant, therefore, effect of the cholera toxin cannot be attributed on the potassium transport on the rats' small intestine.

Concluding with this that the cholera toxin produces changes in the absorption and secretion of water and electrolytes at level of the small intestine of comparable rates of laboratory to the changes produced in the small intestine of infected humans.

Key words: Cholera toxin. Small intestine. Sodium. Chloride. Potassium.

Introducción

La absorción es la principal función en las células del intestino delgado, también existen datos que indican que células epiteliales intestinales localizadas sobre todo en las criptas de Lieberkühn más que sobre las vellosidades, secretan electrolitos y agua en circunstancias normales⁽¹⁾. Éstas, son las células intestinales secretoras (células calciformes, de Paneth y endocrinas) mientras que las ubicadas a nivel de las vellosidades son las células intestinales absorptivas o también llamadas enterocitos, sin em-

* Médico Residente. Residencia Asistencial de Cirugía Hospital General Guatire-Guarenas.

** Médico Residente. Residencia Asistencial de Medicina Hospital General Guatire-Guarenas.

*** Médico Cirujano egresado de la Universidad de Carabobo año 2000.

**** Médico Residente. Residencia Asistencial de Traumatología Hospital Periférico de Coche.

ivetterodriguezdr@hotmail.com

bargo, en las criptas también podemos encontrar de forma muy dispersa este tipo de células ⁽²⁾.

En condiciones normales, la absorción de agua y electrolitos excede a su secreción, lo que conduce a un movimiento neto de estos desde la luz hacia la mucosa intestinal. La cantidad total de líquido presentado al intestino delgado del ser humano adulto es normalmente de 7 a 9 L/día y comprende el líquido secretado en la luz gastrointestinal además del líquido ingerido ⁽¹⁾. La absorción y secreción de agua y electrolitos por el epitelio del intestino delgado es el resultado de diversos mecanismos.

La absorción de agua se realiza principalmente en duodeno y yeyuno y en poca cantidad en íleon y colon. En una primera fase se realiza por difusión pasiva, arrastrada por la diferencia osmótica de Na⁺ existente entre la luz intestinal y el espacio intracelular, donde el sodio (Na⁺) es vertido desde el interior de la célula por la bomba Na⁺/K⁺ ATP asa existente en la membrana laterobasal de la misma, generándose así el correspondiente gradiente diferencial con la concentración de Na⁺ en la luz intestinal, que arrastra el agua desde la luz hacia el espacio intercelular (absorción paracelular); también se describe una absorción transcelular atravesando la membrana vellositaria, difusión que ocurre secundaria a un transporte activo de Na⁺ y otros solutos. Al llegar el agua al espacio intersticial, aumenta en el mismo la presión hidrostática, y por ello el agua pasa desde el tejido intersticial al tejido conectivo subepitelial, y desde allí a los capilares. La secreción del agua, al igual que la absorción, también es secundaria al transporte de solutos, que en este caso, es el cloruro (Cl⁻) que como se verá más adelante es transportado de manera activa desde la serosa hasta la luz intestinal ⁽³⁾.

El conocimiento del transporte de Na⁺ es fundamental, entre otras cosas, porque su transporte permite la absorción de agua. Tres mecanismos fundamentales pueden describirse en la absorción de Na⁺, todos dependientes de la actividad de la bomba Na⁺/K⁺ ATP asa presente en la membrana laterobasal del enterocito. Esta actúa como bomba iónica sacando 3 moles de Na⁺ desde el interior de la célula al espacio intercelular e introduciendo 2 moles de potasio (K⁺) dentro de la célula por cada mol de ATP hidrolizado por acción de la ATP asa lo que permite mantener una concentración intracelular de Na⁺ adecuada. Esta bomba es inhibida por el glucósido Ouabaina ⁽³⁾.

El primer mecanismo es el transporte por difusión pasiva facilitada a través de la membrana apical mediante un canal específico para el Na⁺ que se bloquea por el diurético amiloride. La fuerza que

impulsa al Na⁺ a entrar en la célula es el gradiente de concentración entre el interior de la célula y la luz intestinal, manteniendo por la bomba Na⁺/K⁺, es decir, el Na⁺ entra pasivamente siguiendo un gradiente electroquímico, luego este Na⁺ intracelular es transportado activamente en contra de un gradiente desde la luz a la serosa por la bomba Na⁺/K⁺ ATP asa. Este mecanismo supone la entrada del 85 % del Na⁺ absorbido en ayunas y 35 % del absorbido en período pos-prandial ⁽³⁾.

El segundo mecanismo es el acoplamiento de Na⁺ con otras sustancias y su unión a un transportador específico. Estos solutos son hexosas como la glucosa y la galactosa, aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos, vitaminas hidrosolubles, cloruro, y en íleon con sales biliares. En período pos-prandial, el 10 % de la absorción de Na⁺ se realiza acoplado a las hexosas y el 50 % a aminoácidos. Este transporte funciona a favor del gradiente de concentración de Na⁺ y de solutos manteniendo por la bomba Na⁺/K⁺ ATP asa y por difusión simple de los solutos, respectivamente, a través de la membrana laterobasal desde la célula al intersticio ⁽³⁾.

El tercer mecanismo es el intercambio paralelo Na⁺/H⁺ y HCO₃⁻/Cl⁻, el Na⁺ y el Cl⁻ entran en la célula y el HCO₃⁻ y el H⁺ salen a la luz ⁽³⁾.

La absorción de Cl⁻ se realiza a través de la membrana apical de la célula mediante un cotransportador al que se unen dos iones de Cl⁻, un ión de Na⁺ y un ión de K⁺; también a través del mecanismo de intercambio con el HCO₃⁻ nombrado anteriormente. Existe además un mecanismo de transporte de Na⁺/Cl⁻ que es electroquímicamente neutro y consiste en la entrada de ambos iones. El Cl⁻ se secreta activamente en el intestino: entra al interior de la célula desde el espacio intersticial en contra de su gradiente electroquímico acoplado al Na⁺ como se explicó anteriormente, y luego es secretado por los canales de Cl⁻ ubicados en la membrana apical de las células de las criptas de Lieberkühn.

La absorción de K⁺ se realiza por difusión pasiva y alcanza con una relativa rapidez el equilibrio con los niveles en sangre. Algunos autores han aportado evidencias a favor de un mecanismo activo a través de una K⁺/H⁺ ATP asa. La secreción se inicia por la entrada de K⁺ a la célula por acción de la bomba Na⁺/K⁺ ATP asa que crea un gradiente positivo, desde el interior de la célula con respecto a la luz, y produce la salida de K⁺; tanto en la membrana apical como en la laterobasal ⁽³⁻⁴⁾.

La absorción de HCO₃⁻ tiene lugar en duodeno y yeyuno de dos maneras: una primera pasiva y una

segunda mediante un mecanismo combinado de absorción entre el Na^+ y el HCO_3^- , previo intercambio de Na^+ por HCO_3^- con alteración del equilibrio de disociación $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$. Se secreta preferentemente en íleon y colon, contra el gradiente electroquímico allí existente, mediante el intercambio de Cl^- , presente en la luz, por HCO_3^- presente en el interior de la célula ⁽³⁾.

Es importante señalar que el transporte de iones y por consiguiente también de agua, están regulados por una serie de factores extracelulares como factores hormonales, neurohormonales (sistema simpático adrenérgico que aumenta la absorción, colinérgico que aumenta la secreción, opiáceos endógenos que estimulan la absorción), el pH ácido y la hipercapnia que aumentan la absorción de Cl^- y Na^+ ; existen también factores intracelulares como la GMP cíclico, AMP cíclico y el Ca^{++} intracelular ⁽³⁾.

Como se ha discutido anteriormente, los electrolitos y el agua son absorbidos y también secretados por el epitelio intestinal normal. Si la secreción excede a la absorción puede resultar una diarrea secretora. La profusa diarrea secretora que se observa en el cólera puede ser considerada un prototipo de la patogenia de este grupo de trastornos. Los rasgos clínicos y fisiopatológicos de esta enfermedad se deben a la acción de una potente enterotoxina liberada en la luz del intestino delgado por el microorganismo causal, el *Vibrio cholerae* ⁽¹⁾.

El *V. cholerae* es un bacilo corto gramnegativo, curvo, móvil, monoflagelar, termolábil, aerobio, sensible a los ácidos gástricos por lo tanto la hipoclorhidria y la aclorhidria son factores predisponentes. Está clasificado según su antígeno somático O ⁽⁵⁾. La mayoría de los casos de cólera clínico se han producido por las cepas que aglutinan el antisuero O del grupo 1, sin embargo, se conocen casos producidos por otros miembros del *V. cholerae* no-O1. El *V. cholerae* se clasifica en dos biotipo, el "Clásico" y el "Tor", a su vez, cada biotipo se divide en dos serotipos denominados "Inaba" y "Ogawa" ⁽⁶⁾.

Una multiplicidad de factores ambientales y del huésped determina la incidencia de esta enfermedad. Entre estos, podemos citar el grado de hacinamiento, el nivel bajo de salubridad y la presencia del organismo en la comunidad (características comunes de los países subdesarrollados). La diseminación a través de condiciones insalubres, ocurre por vía fecal-oral: ingestión de agua, pescado y otros alimentos contaminados por los excrementos de personas con una infección somática o asintomática ⁽⁶⁻⁷⁾. No se conoce ningún reservorio animal. La dosis infecciosa es relativamente alta pero disminuye mucho en personas con hipoclorhidria o cuando el

pH gástrico es neutralizado por los alimentos.

En regiones endémicas el cólera es principalmente una enfermedad pediátrica, pero cuando ha invadido recientemente a un grupo de población afecta a niños y adultos por igual. La enfermedad es más frecuente en las áreas endémicas en los meses de verano y otoño debido a factores ambientales que influyen en la multiplicación del *Vibrio* o bien a cambios estacionales en el comportamiento humano que afectan su contacto con el agua. Por razones desconocidas, la sensibilidad al cólera depende considerablemente al grupo sanguíneo ABO, habiendo mayor riesgo para quienes pertenecen al grupo O ⁽⁶⁾.

En Venezuela, el primer caso de cólera se detectó en el Estado Zulia, en diciembre de 1991, en un paciente procedente de Colombia (caso importado), al que siguió en el resto del año y en esa misma entidad 12 casos adicionales, más uno detectado en el Estado Táchira, con una sola muerte ese año. A partir del año 1992 se registraron casos en la mayoría de las entidades geopolíticas del país, continuando la epidemia hasta 1993, y no detectándose actividad de la epidemia ni denuncia de casos confirmados hasta los inicios de junio de 1996 cuando de nuevo se notifican los primeros casos importados desde Urbilla (Colombia) por el Sistema de Vigilancia Epidemiológica del Estado Zulia. Posterior a estos casos importados, a finales de septiembre de 1996 se confirman casos autóctonos de cólera en el Municipio Páez del Estado Zulia. Hasta mayo de 1997, el cólera ha sido notificado en 12 de las entidades federales del país, quienes en total notifican un acumulado de 1 506 casos, de los cuales 23 son importados y 574 confirmados por el laboratorio con un total de 46 defunciones ⁽⁷⁾.

Es de hacer notar que la epidemia de cólera en Latinoamérica, extensión de la séptima pandemia de la enfermedad, ha sido probablemente la mejor estudiada y documentada en los últimos años, destacándose la baja tasa global de fatalidad de casos, siendo Perú la más baja durante ese período (0,7 %) ⁽⁷⁾.

Una vez ingeridos los alimentos o agua contaminados con *V. cholerae*, si la bacteria logra atravesar el pH ácido del estómago llega al intestino delgado y allí coloniza la luz del duodeno y yeyuno multiplicándose, mientras que la mucosa intestinal permanece histológicamente normal ya que no se encuentra invadida por el *Vibrio*. Este produce una potente exotoxina, la enterotoxina colérica, la cual es liberada a la luz del intestino y luego se adhiere a la membrana de las células epiteliales del mismo. La toxina colérica es una molécula proteica con un PM

de aproximadamente 84,00 daltons; está compuesta por 5 subunidades B rodeando a una única subunidad A (subdividida a su vez en subunidad A1 y A2), ésta se adhiere a la membrana de las células mediante la fijación de la subunidad B a un receptor presente en la membrana, el gangliósido GM-1, de esta forma ocurre un cambio conformacional en la toxina permitiendo que la subunidad A1 penetre la membrana de la célula, sin destruir su integridad, llegue al citosol de la misma y allí interactúe con una proteína G (compuesta por tres subunidades: a, b, y a_{GTP}) en este momento el GTP de la subunidad a de la proteína G es convertido en GDP por la acción de la GMP cíclica para activar a la subunidad a la cual, una vez activada, se separa de las otras subunidades e interactúa con la adenilciclase activándola, esta enzima activa cataliza la conversión de ATP en AMP cíclico, de esta manera encontramos los niveles de AMP cíclico aumentados en estas células de forma continua mientras la toxina este adherida a la membrana. Este segundo mensajero aumenta la actividad de la proteincinasa la cual origina una fosforilación de las proteínas de la membrana celular inhibiéndolas o activándolas y produciendo trastornos en el transporte de electrolitos, y por lo tanto de agua, a través de la mucosa intestinal ⁽¹⁻⁸⁾.

Recientemente se ha podido demostrar el efecto que la toxina colérica tiene sobre el intestino delgado. Este consiste en un aumento de la secreción de K^+ y HCO_3^- y una disminución en la absorción de Na^+ , Cl^- y agua a este nivel, por lo tanto, se pierde el rol compensatorio que asume en condiciones normales el intestino delgado de absorber hasta 6 L de fluidos por día y así reducir la pérdida de líquidos en las heces.

También se ha descrito el proceso a través de la activación de la fosfolipasa C (también mediado por una proteína G específica) lo que lleva a la hidrólisis del fosfatidil inositol difosfato (PIP2) a inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG), el IP3 provoca un aumento del Ca^{++} citosólico, primero a partir del almacenamiento intracelular y subsecuentemente incrementando el influjo del Ca^{++} extracelular ⁽⁹⁾. Los niveles aumentados de Ca^{++} o de AMP cíclico activan a una proteincinasa que fosforila al cotransportador presente en la membrana laterobasal de $Na^+-K^+-2 Cl^-$ activándolo y provocando un aumento en la entrada de estos iones a la célula, este Na^+ estimula a la Na^+/K^+ ATP asa incrementando la salida de Na^+ y la entrada de K^+ . Con el incremento del K^+ intracelular se activa el canal de K^+ ubicado en la membrana luminal y se produce la salida de este ión hacia la luz, la activación de este canal también puede ser producida por el aumento en los niveles de AMP cíclico o Ca^{++} intracelular ⁽⁴⁾.

El período de incubación de la enfermedad es de 24 a 48 horas. Comienza de manera brusca con una diarrea acuosa indolora que puede adquirir rápidamente proporciones voluminosas y que a menudo se acompaña de vómitos. En los casos más graves el volumen fecal supera 250 mL/kg de peso en las primeras 24 horas (la cantidad de deposiciones puede ser de 1 L/h aproximadamente). Si no se sustituyen los líquidos y electrolitos el enfermo deshidratado desarrolla un *shock* hipovolémico y puede fallecer. Las heces tienen un aspecto característico: líquido no bilioso, gris, ligeramente opaco, con restos de moco, sin sangre y un olor ligeramente dulce, se le ha llamado heces "en agua de arroz" por su semejanza con el agua con que se lava el arroz ⁽⁶⁾. La depleción de agua y electrolitos resultante causa sed intensa, oliguria, calambres musculares, debilidad y pérdida notable de la turgencia de los tejidos con los ojos hundidos y piel arrugada en los dedos de las manos (piel de lavandera). Hay hipovolemia, hemoconcentración, oliguria, anuria y acidosis metabólica severa (por las pérdidas excesivas de HCO_3^- con las heces) con depleción de K^+ (pero con concentración plasmática normal de Na^+) ⁽⁵⁾. Las complicaciones proceden únicamente de los efectos de la reducción de volumen y electrolitos y comprenden, entre otros, insuficiencia renal secundaria a necrosis tubular aguda y complicaciones cardíacas ⁽⁶⁾.

El tratamiento de un paciente con cólera debe estar orientado en primer lugar a la restitución de los electrolitos y agua perdidos a través de la rehidratación oral con solución Ringer lactato enriquecido con glucosa ^(1,5,6). La presencia de glucosa en la solución contribuye a la efectividad del tratamiento por vía oral ya que la toxina colérica no interfiere en la absorción de Na^+ ligada a glucosa a nivel de las células epiteliales del intestino delgado ⁽¹⁻⁸⁾. Si esta terapia se hace a tiempo y de forma continua durante tres o cuatro días para que el organismo recobre el agua y electrolitos perdidos hay una buena recuperación. Concomitante con esta terapia pueden aplicarse antibióticos como la tetraciclina destinados a eliminar el agente causal de la luz del intestino, el *V. cholerae* ^(1,5,6).

Materiales y métodos

Materiales: pentotal sódico. Solución de cloruro de sodio al 0,9 %, solución de Ringer lactato: cada 100 mL contienen 600 mg de NaCl, 310 mg de lactato de sodio, 30 mg de KCl, 20 mg de $CaCl_2$ pH de 6,5; 130 mEq/L de Na^+ , 4 mEq/L de K^+ , 3 mEq/L de Ca^{++} , 109 mEq/L de Cl^- , 28 mEq/L de lactato y

osmolaridad de 273 mosm/L. Todas estas sustancias fueron obtenidas en el IVIC.

Animales: se utilizaron ratas machos de la cepa Espasigue Dawley, obtenidas en el Bioterio del Instituto de Higiene del MSAS, con un peso comprendido entre 250 y 300 g, previamente sometidas a un ayuno de 6 horas. Esto corresponde a la muestra que serían 50 ratas de laboratorio sanas, de la cepa y el peso nombrado que servirán de control y 50 ratas de laboratorio, de la cepa y el peso nombradas, infectadas con toxina colérica para hacer la demostración experimental.

Métodos: las ratas fueron anestesiadas con 0,12 mL de pentotal sódico (25 mg/kg de peso corporal) por vía intraperitoneal. Una vez sedadas se procedió a fijarlas a la mesa de trabajo utilizando una cinta adhesiva. Se abrió la piel del abdomen a lo largo de la línea media y se realizó una incisión de 1 cm aproximadamente en la pared anterior del mismo, a través de la cual se extrajo el intestino delgado (yeyuno e íleon). En el extremo proximal se realizó un corte transversal parcial a través del cual se introdujo una cánula y se fijó mediante una ligadura hecha con hilo de sutura. En el extremo distal, inmediatamente antes de la válvula ileocecal, se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente. La cánula proximal fue conectada a un sistema de infusión continua y la cánula distal a un recipiente colector. Inicialmente, en ambos experimentos (control y con toxina colérica), se lavó el contenido intestinal haciendo pasar la solución de NaCl al 0,9 % hasta que el líquido obtenido a través de la cánula distal fuera transparente. Seguidamente, en el experimento control, se profundizó el intestino delgado de la rata con solución Ringer a una velocidad constante. Se recolectó el líquido obtenido por medio de la cánula distal en un recipiente limpio y se tomaron 2 muestras de 1 mL. Cada una, con una micropipeta automática, a los 0, 5, 10, 15, 30 y 40 minutos y fueron almacenadas en tubos de ensayo limpios para determinar posteriormente la concentración iónica de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ y de esta manera evaluar separadamente el transporte de los mismos a través de la mucosa intestinal.

En el experimento con toxina colérica, antes de profundizar el intestino delgado, de la forma explicada en el experimento anterior, con la solución Ringer, se inyectaron intraluminalmente 1 µg de toxina colérica y se esperaron 30 minutos, e inmediatamente después, se procedió a recolectar la solución de perfusión intestinal de la misma forma que en el experimento control.

Medición de la concentración de Na⁺ y K⁺: el líquido almacenado en los tubos de ensayo fueron

analizados utilizando un fotómetro de llama.

Medición de la concentración de Cl⁻: el líquido almacenado en los tubos de ensayo fueron analizados mediante un clorímetro.

El cálculo del transporte neto de cada ion fue realizado restando a la concentración inicial (Ci) la concentración final (Cf) donde, los resultados positivos (+) representan absorción neta y los negativos (-) secreción neta.

Estadística: los resultados fueron expresados como las medias \bar{x} el error estándar con un margen de error de 0,98. Las diferencias entre las medias fueron comparadas utilizando la t de Student. Como límite de significancia estadística se tomó una P \leq 0,05.

Resultados

En el Cuadro 1 se observa el efecto de la toxina colérica sobre el transporte de electrolitos (Na⁺, K⁺ y Cl⁻) en el intestino delgado de los animales de experimentación. Se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo al cual se le administró la toxina colérica en el transporte de Na⁺ (P \leq 0,0001) y Cl⁻ (P \leq 0,0048), no así en el transporte de K⁺.

Cuadro 1

Efecto de la toxina colérica sobre el transporte hidroelectrolítico en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas

Electrolitos	Ratas sanas control	Ratas infectadas con toxina colérica	P
Sodio	33,33 \pm 0,88	-1,5 \pm 2,8	\leq 0,0001
Potasio	0,1 \pm 0,057	0,06 \pm 0,03	NS
Cloruro	9,33 \pm 8,6	-40 \pm 1,52	\leq 0,0048

n: 100. P: \leq 0,05. ES: 0,98.

La concentración de Na⁺ en el líquido luminal recolectado en presencia y en ausencia de toxina colérica en los diferentes tiempos se representa en la Figura 1. En el líquido luminal recolectado del grupo control se observa una disminución progresiva

¿Existen cambios entre la absorción hidroelectrolítica en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas con toxina colérica?

de la concentración de Na^+ partiendo de un nivel basal de $123 \pm 1,53$ meq/L en el primer tiempo (0 min) hasta $100,3 \pm 1,45$ meq/L en el sexto tiempo (40 min). En el líquido luminal recolectado del grupo al cual se le administró toxina colérica se observa un comportamiento similar hasta el quinto tiempo (30 min), partiendo de un valor de $130,6 \pm 1,76$ meq/L en el tiempo inicial hasta un valor de $110 \pm 1,15$ meq/L en el quinto tiempo, después del cual comienza a aumentar de forma acelerada alcanzando un valor de $143,3 \pm 1,86$ meq/L en el sexto tiempo (40 min), momento en el cual ocurrió la muerte del animal. Estos cambios condujeron finalmente a una modificación en el patrón de transporte del Na^+ a nivel del intestino delgado (Figura 2), pasando desde la condición de absorción neta, observada en el grupo control, a una condición de secreción neta en el grupo al cual se le administró la toxina colérica.

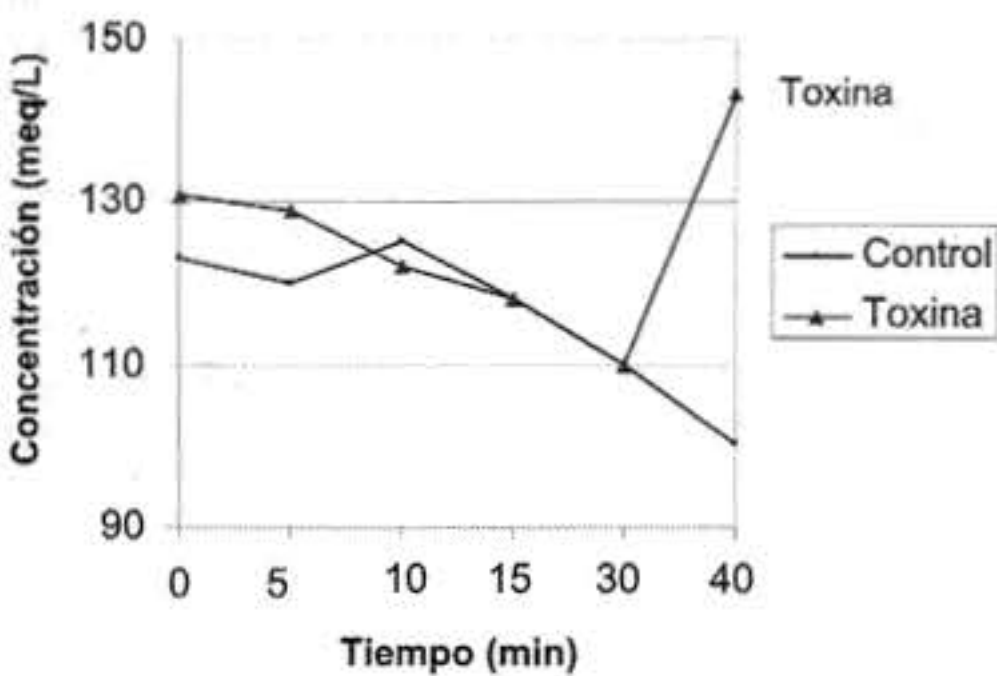


Figura 1. Efecto de la toxina colérica sobre el transporte de sodio (Na^+) en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas. n: 100. P: < 0,05. ES: 0,98.

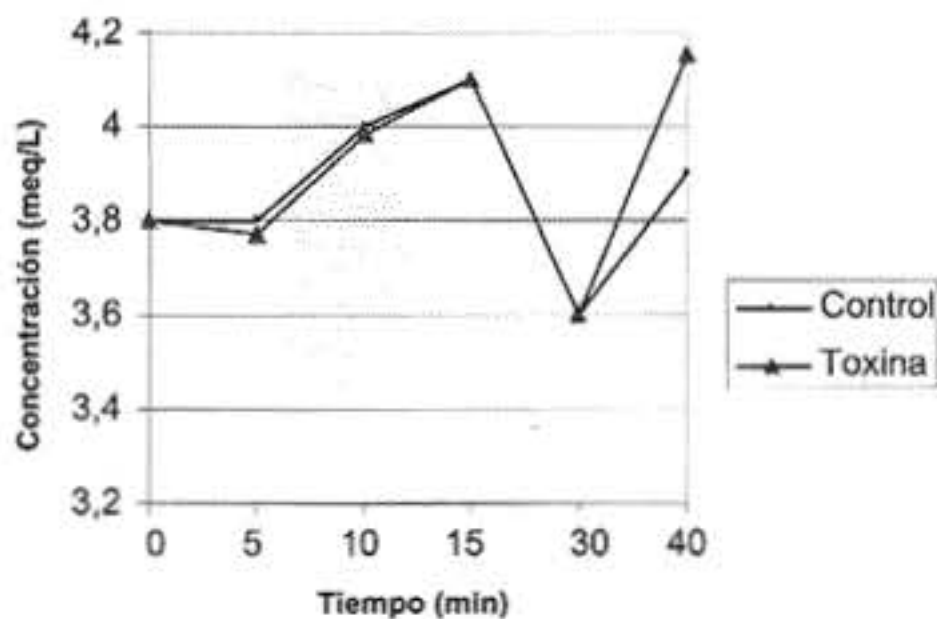


Figura 2. Efecto de la toxina colérica sobre el transporte de sodio (K^+) en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas. n: 100. P: < 0,05. ES: 0,98.

La concentración de K^+ en el líquido luminal recolectado en presencia y en ausencia de toxina colérica en los diferentes tiempos se representa en la Figura 2. Los valores de la concentración de K^+ en el líquido luminal recolectado en el grupo control y en el grupo al que se le administró la toxina colérica presentaron un comportamiento muy similar durante los primeros 30 minutos, observándose una ligera variación en el sexto tiempo (40 min) que sin embargo, no fue estadísticamente significativa. En el experimento realizado no encontramos modificaciones en el transporte de K^+ entre el grupo control y el grupo al cual se le administró la toxina colérica (Figura 3 y 4).

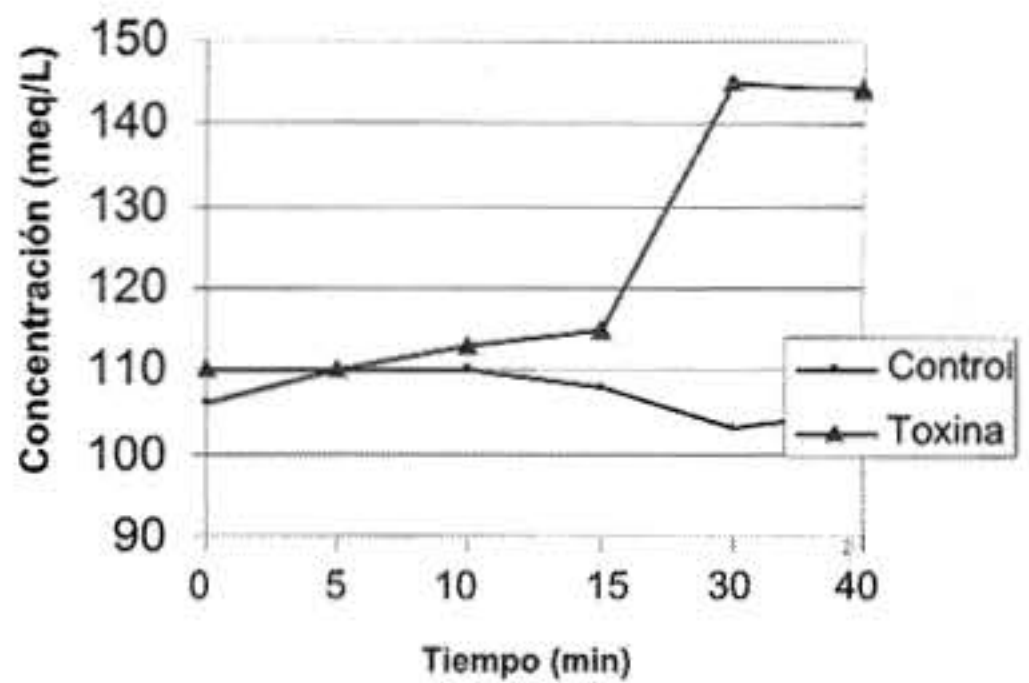


Figura 3. Efecto de la toxina colérica sobre el transporte de cloruro (Cl^-) en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas. n: 100. P: < 0,05. ES: 0,98.

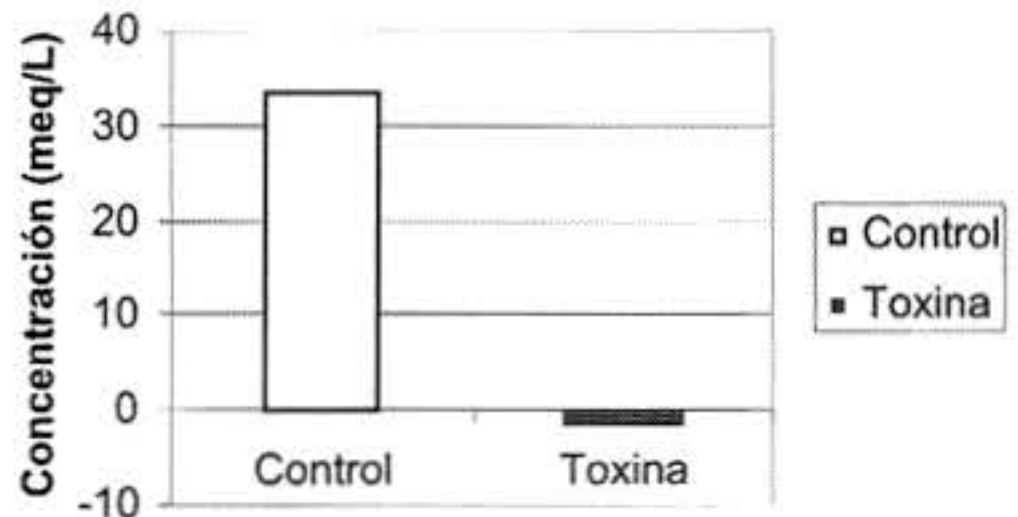


Figura 4. Efecto de la toxina colérica sobre el transporte de sodio (Na^+) en el Intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas. n: 100. P: < 0,05. ES: 0,98.

La concentración de Cl^- en el líquido luminal recolectado en presencia y en ausencia de toxina colérica en los diferentes tiempos se representa en la Figura 5. En el líquido luminal recolectado del grupo control se observa una ligera disminución en la concentración de Cl^- partiendo de un valor basal de $107 \pm 0,58 \text{ mEq/L}$ en el primer tiempo (0 min) hasta un valor de $103 \pm 2,33 \text{ mEq/L}$ en el sexto tiempo (40 min). En el líquido luminal recolectado del grupo al cual se le administró la toxina colérica se observa un aumento progresivo en la concentración de Cl^- , este aumento puede ser dividido, sistemáticamente, en dos períodos. El primero, de ascenso lento, entre el segundo tiempo (5 min) y el cuarto (15 min), variando las concentraciones de $109 \pm 2,03 \text{ mEq/L}$ a $115,6 \pm 3,18 \text{ mEq/L}$ respectivamente. El segundo, de ascenso rápido, entre el cuarto tiempo (15 min) y el quinto (30 min) aumentando las concentraciones desde $115,6 \pm 3,18 \text{ mEq/L}$ hasta $145,6 \pm 2,03 \text{ mEq/L}$, respectivamente. Después de este período de ascenso rápido, entre el quinto y sexto tiempo la concentración de Cl^- se mantiene casi constante. Estos cambios observados en la concentración de Cl^- luminal se traducen en la modificación del transporte de este ión a nivel del intestino delgado (Figura 5 y 6), pasando de una condición de absorción neta, observada en el grupo control, a una condición de secreción neta en el grupo al cual se le administró la toxina colérica. Es importante destacar que la secreción de Cl^- es mucho más evidente que la secreción de Na^+ inducida por la toxina colérica.

Discusión

En este estudio hemos empleado un modelo animal para observar los cambios en el movimiento electrolítico ocasionados por la toxina colérica a nivel del intestino delgado. Los resultados obtenidos reflejan la existencia de un tiempo de incubación de 35 a 60 minutos durante el cual no son observados cambios en la concentración luminal de iones a excepción de ligeros aumentos observados en la secreción de Cl^- , esto sugiere la existencia de un efecto precoz de la toxina colérica sobre el transporte de Cl^- con respecto a los demás iones, probablemente debido a la fosforilación de transportadores ubicados en la membrana apical de la célula intestinal que conducen a un aumento en la concentración luminal del mismo. Los transportadores implicados podrían ser el canal de Cl^- , que activado por la fosforilación, produce salida de este ión desde el espacio intracelular hacia la luz y un cotransportador Na^+/Cl^- , que inhibido por la fosforilación, contribuye al aumento luminal de Na^+ y Cl^- . El aumento precoz de los niveles de Cl^- con respecto a los niveles de Na^+ podría deberse entonces, por una parte, a que existe un efecto temprano de la toxina colérica sobre el canal secretor de Cl^- , y por otra parte, a la existencia de diversos mecanismos de transporte de Na^+ (acoplamiento de Na^+ a otras sustancias como hexosas, aminoácidos, vitaminas, etc.), difusión facilitada por un canal de Na^+ intercambiador como

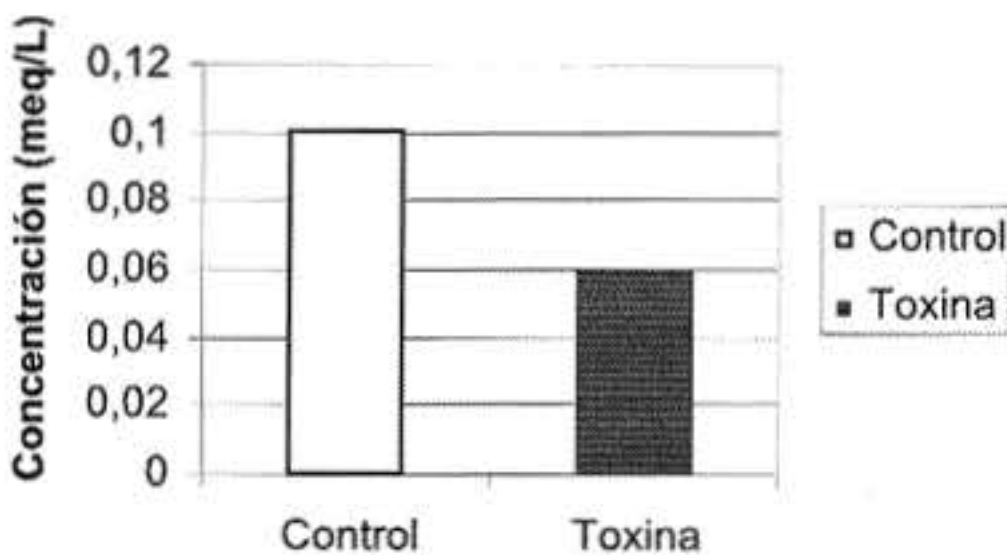


Figura 5. Efecto de la toxina colérica sobre el transporte de sodio (K^+) en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas. n: 100. P: < 0,05. ES: 0,98.

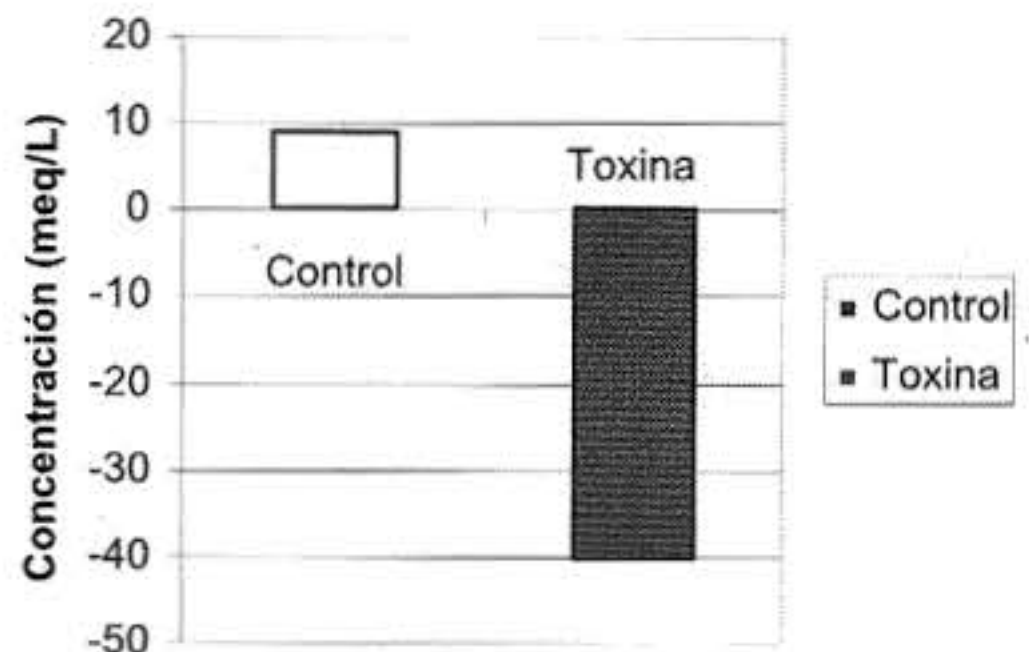


Figura 6. Efecto de la toxina colérica sobre el transporte de cloruro (Cl^-) en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas. n: 100. P: < 0,05. ES: 0,98.

¿Existen cambios entre la absorción hidroelectrolítica en el intestino delgado de ratas sanas de laboratorio y ratas infectadas con toxina colérica?

el de Na^+/H^+ que podría compensar o retardar la elevación luminal de la concentración de Na^+ . Esto explica que la diferencia entre concentración inicial y la final (transporte neto) de Cl^- a nivel luminal es mayor que la de Na^+ . Estos hechos coinciden con un estudio de Powell, Binder y Curran ⁽¹⁰⁾.

La fosforilación de los transportadores es la consecuencia de la síntesis de segundos mensajeros inducida por la toxina colérica, siendo el de mayor importancia el AMP cíclico, como ha sido comprobado por experimentos realizados por Peterson JW y Whipp SC ^(8,11).

A diferencia de los resultados anteriores, los cambios en el transporte del K^+ no fueron significativos, por tanto, no se puede atribuir efecto de la toxina colérica sobre el transporte de K^+ en el intestino delgado, y por consiguiente, el aumento de la concentración de este ión encontrada en el análisis de las secreciones diarreicas de los enfermos con cólera se podrían atribuir a la secreción aumentada del mismo a nivel del colon, como un efecto a distancia de la toxina colérica. Hechos estudiados por Arévalo, Elvir y Santorsola ⁽⁴⁾ y Norcerino, Iafusco y Guandalini ⁽¹²⁾.

En conclusión, en nuestro estudio se observaron los efectos de la toxina colérica sobre el transporte de electrolitos en el intestino delgado de ratas, consistentes en un aumento en la secreción de Cl^- y una disminución en la absorción de Na^+ , que se evidencia por el aumento de su concentración en el líquido luminal. Estos resultados pueden ser comparados con los estudios realizados en humanos por Petritsch, Eherer, Holzer-Petsche y col. ⁽¹³⁾, el cual concluye que la toxina colérica produce cambios en la absorción y secreción de agua y electrolitos en el intestino delgado de humanos específicamente a nivel de yeyuno.

Referencias bibliográficas

1. Arévalo JC, Elvir JR, Santorsola A. Efectos de la epinefrina sobre el transporte de potasio en el colon. *Rev Méd Hondureña*. 1993;61:122-126.
2. El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. Océano Grupo Editorial S.A./Doyna Libros S.A. 9ª edición. España. 1994;118-122.
3. Food poisoning and common sources outbreaks. Small intestine: Infections with common bacterial and viral pathogens. 1621-1624.
4. Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB. Harrison. Principios de Medicina Interna. 13ª edición. España: Editorial Interamericana. McGraw-Hill; 1994;I:794-796.
5. Kumar V, Conran RS, Robbins SL. Patología Humana. 5ª edición. México: Editorial Interamericana. McGraw-Hill; 1995:31-32.
6. Medicina Tropical. Tomo III. Universidad Central de Venezuela Facultad de Medicina. Escuela "Luis Razetti". Cátedra de Medicina Tropical. Caracas. 1997;216-225.
7. Nocerino A, Iafusco M, Guandalini S. Gastroenterology. Cholera toxin induced small intestinal secretion has a secretory effect on the colon of rat. 1995;108:34-39.
8. Peterson JW, Whipp SC. Comparison of the mechanisms of action of cholera toxin and the heat-stable enterotoxins of *Escherichia coli*. *Infection and Immun*. 1995;63:1452-1461.
9. Petritsch W, Eherer AJ, Holzer-Petsche U, Hinterleitner T, Beubler E, Krejs GJ. Effect of cholera toxin on the human jejunum. *Infection and Immun*. 1992;33:1174-1178.
10. Powell DW, Binder HJ, Curran PF. Active electrolyte secretion stimulated by cholera toxin in rabbit ileum in vitro. *Am J Phys*. 1973;225:781-787.
11. Smith LH, Their SO. Fisiopatología. Principios Biológicos de la Enfermedad. 2ª edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 1988:1088-1102.
12. Tresguerres JAF. Fisiología Humana. España: Editorial Interamericana McGraw-Hill; 1993:776-782.
13. Wheater PR, Burkett HG, Daniels VG. Histología Funcional. España: Editorial Jims; 1989:190-192.