

Efectos de la diarrea secretora y osmótica sobre la función y morfología del intestino en ratas

Margarita de Lima de Mon, Anna M. Cioccia, Eduardo González y Patricio Hevia

Escuela de Medicina «Luis Razetti», Universidad Central de Venezuela (UCV). Laboratorio de Nutrición
Universidad Simón Bolívar. Venezuela

RESUMEN. Para comparar la morfología intestinal con la función absorbiva se produjo diarrea en ratas agregando laxantes en la dieta. El estudio de 14 días, incluyó dos grupos de ratas con diarrea (osmótica o secretora), dos grupos sin diarrea pero con desnutrición equivalente a la observada en las ratas con diarrea (desnutridas sin diarrea) y un grupo bien nutrido (control). La inclusión de los laxantes (lactosa o bisoxatin acetato) en la dieta, produjo una reducción de la ingesta, diarrea y desnutrición. Además, disminuyó la digestibilidad de la proteína y la grasa dietarias. Esta disminución en la función absorbiva fue proporcional a la severidad de la diarrea y más severa en las ratas con diarrea secretora. En las ratas desnutridas sin diarrea, la desnutrición no afectó la capacidad absorbiva. En las ratas con diarrea osmótica o secretora se produjo una hipertrofia del intestino delgado cuya magnitud fue proporcional a la severidad de la diarrea e independiente de su etiología. En los intestinos de las ratas con ambos tipos de diarrea hubo evidencias de inflamación, un mayor número de figuras mitóticas y no se observó el aplanamiento de las vellosidades observado en las ratas desnutridas sin diarrea. En la diarrea osmótica, se detectó además zonas de rompimiento de la chapa estriada y aumento de células caliciformes, indicando un mayor deterioro de la mucosa. Como estas ratas absorbieron más proteína y grasa, se concluyó que los cambios morfológicos no fueron predictivos de la función absorbiva intestinal. Este estudio mostró además que la diarrea tuvo un efecto trófico sobre el intestino que no se vio en la desnutrición sin diarrea.
Palabras clave: Diarrea, osmótica, secretora, ratas, morfología intestinal, morfometría, función.

SUMMARY. Effect of osmotic or secretory diarrhea on rat intestinal function and morphology. In order to compare intestinal morphology and function, diarrhea was produced in rats using laxatives in the diet. The 14 day study included two groups of rats with diarrhea (osmotic or secretory), two groups without diarrhea but with a degree of malnutrition which was similar to that seen in the rats with diarrhea (malnourished without diarrhea) and a well-nourished group (control). The inclusion of laxatives (lactose or bisoxatin acetate) cause a reduction in food intake, diarrhea and malnutrition. It also caused a reduction in dietary protein and fat digestibility which was proportional to the severity of diarrhea and more pronounced in secretory diarrhea. In the malnourished rats without diarrhea, malnutrition did not affect their absorptive function. Both in the rats with secretory and osmotic diarrhea an intestinal hypertrophy was observed. This hypertrophy was proportional to the severity of diarrhea and independent of its aetiology. In the intestines of the rats with both types of diarrhea there was inflammation, a greater number of mitotic figures but the flattening of the villi seen in the malnourished rats without diarrhea was not seen. In osmotic diarrhea there was, in addition, a patchy damage of the surface of the jejunal mucosa and an increment in the number of goblet cells, indicating a more severe intestinal deterioration. Since despite this greater deterioration, these rats absorbed more protein and fat we concluded that the alterations in intestinal morphology seen in this study was not predictive of intestinal function. The study also showed that diarrhea had a trophic effect on the intestine which did not occur in malnourished rats without diarrhea.

Key words: Diarrhea, osmotic, secretory, rats, intestinal morphology, morphometry,

INTRODUCCION

La diarrea, un problema de salud pública debido a la alta morbilidad y mortalidad (1-4), está vinculada estrechamente a la nutrición. Así, la evidencia existente indica que la diarrea es la principal causa de la desnutrición infantil (5) y a su vez, la desnutrición predispone a episodios más prolongados de diarrea, que son justamente los que están asociados con una mayor mortalidad (6). De acuerdo con esto, las estadísticas disponibles indican que al menos la mitad de los casos de mortalidad por diarrea, ocurren en niños desnutridos (1).

La desnutrición asociada a la diarrea se produce por una serie de factores, entre los que destaca en primer lugar la anorexia propia del que tiene diarrea (7). Sin embargo, hay otros que también contribuyen, como es la disminución de la capacidad absorbiva que afecta a todos los nutrientes pero que incide principalmente en la absorción de las proteínas (7) y algunos micronutrientes (8). Los factores responsables de esta reducción, son un aumento en la velocidad de tránsito intestinal, que reduce el tiempo de contacto entre los nutrientes y sus sitios de absorción en el intestino y además cambios estructurales de la mucosa intestinal que reducen

su capacidad absorbente. En la práctica, durante la diarrea estos dos factores, que afectan la función intestinal, actúan al mismo tiempo y es difícil decidir cual de los dos es más importante. Esto se debe a que la diarrea produce desnutrición y la desnutrición se afecta la morfología del intestino ya que este es uno de los órganos que tiene una de las más altas tasas de recambio en el organismo (9). Así, es difícil saber cuales son los cambios morfológicos asignables a la diarrea y cuales a la desnutrición.

Dentro de este marco de referencia, el objetivo de este estudio fue comparar la absorción de proteína y grasa como indicadores de la función intestinal con los cambios morfométricos y morfológicos del intestino, producidos por dos promotores de diarrea en ratas. Vale la pena agregar aquí que de acuerdo a los expertos (10) la digestibilidad proteica medida en ratas es la mejor forma de predecir la digestibilidad proteica en humanos y que la digestibilidad de la grasa medida en ratas y humanos también son semejantes (11).

Los agentes utilizados para producir la diarrea fueron la lactosa (7) y el bisoxatin acetato (7). El primero produce una diarrea de tipo osmótico mientras que el segundo produce una diarrea secretora (7). La lactosa ya ha sido usada para producir una diarrea experimental en ratas (8,12) y el bisoxatin acetato es el compuesto activo del laxante comercial conocido como Regoxal que distribuyen en Venezuela los Laboratorios Vargas.

En estudios preliminares, se observó que estos dos laxantes producen, además de diarrea, una reducción voluntaria importante del consumo de alimento. Esto hace que en estos animales se produzca diarrea y desnutrición. Por esta razón, en el experimento que se reporta aquí, se incluyeron, además de las ratas que recibieron los laxantes, grupos de ratas a las que se les ofreció la dieta sin laxante, pero al mismo nivel de consumo registrado en los grupos con laxante. Esta restricción del consumo, introducida aquí como parte del protocolo experimental, produjo desnutrición pero no diarrea. Así, en este experimento se pudo comparar la función y morfología intestinal en animales con el mismo grado de desnutrición pero con y sin diarrea. Este tipo de manejo experimental se pueden hacer sólo con modelos animales y fueron los que motivaron la búsqueda de estos modelos no infecciosos de diarrea.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental: Para este estudio se utilizaron 35 ratas *Sprague-Dawley* machos con un peso inicial de aproximadamente 60g. Se sometieron previamente a un período de acondicionamiento de dos días con dieta control (Tabla 1), la cual cubre los requerimientos de la rata en crecimiento (13). Luego, las ratas fueron distribuidas al azar en cinco grupos de siete ratas cada uno. El grupo 1, (Control)

consumió ad libitum la dieta definida como control en la Tabla 1. Los grupos 2 y 3 fueron los grupos con diarrea. Al grupo 2 (Diarrea Secretora) se le suministró una dieta que contenía 3.84% de Bisoxatin Acetato agregado a expensas del almidón. El grupo 3 (Diarrea Osmótica) recibió una dieta en la que la Lactosa reemplazó al 60% del almidón (Tabla 1). Los dos grupos con diarrea consumieron las dietas asignadas ad libitum.

TABLA 1
Composición de las dietas control y con laxantes (Bisoxatin Acetato y Lactosa) ofrecidas a las ratas durante el experimento

Ingrediente (%)	Dieta		
	Control	Con Laxante Bisoxatin acetato	Lactosa
Caseína	16.2	16.2	16.2
Aceite de maíz	5.0	5.0	5.0
Minerales AIN-76	3.5	3.5	3.5
Vitaminas AIN-76	1.0	1.0	1.0
Bitartrato de colina	0.2	0.2	0.2
Metionina	0.3	0.3	0.3
Almidón de maíz	73.8	70.0	29.8
Laxante	0	3.8	44.0
Total	100	100	100

Como en experimentos preliminares, se observó que las ratas a las cuales se les ofrecieron dietas, con lactosa o con Bisoxatin Acetato, presentaban diarrea, anorexia y desnutrición, en este experimento se incluyeron grupos de ratas que recibieron la dieta control, sin laxantes, pero restringiendo su consumo al nivel medido en las ratas que recibieron los laxantes. Así, al grupo 4 se le ofreció diariamente una cantidad de dieta control similar a la que habían consumido las asignadas a la dieta que contenía bisoxatin acetato el día anterior. Asimismo, el grupo 5 recibió dieta control al nivel medido en las ratas que consumían la dieta con lactosa. Así, en estos grupos se pudo reproducir el bajo consumo y la desnutrición observada en las ratas con diarrea pero sin producirles diarrea. Resumiendo, este experimento incluyó 5 grupos de ratas de los cuales los tres primeros recibieron las dietas asignadas (Dieta control, dieta con Bisoxatin Acetato y dieta con Lactosa) ad libitum y dos grupos adicionales a los que se les restringió la oferta de alimento, para que consumieran la misma cantidad de dieta medida en los grupos con bisoxatin acetato o lactosa. El consumo de agua en todos los animales fue ad libitum.

Las ratas se alimentaron con las dietas asignadas por un período de 14 días. Durante este período de tiempo se llevó un control de la ingesta de alimento y peso corporal para determinar consumo de alimento, eficiencia y crecimiento.

Durante los días 11-13 del período experimental se hicieron colecciones de heces sobre mallas de acero inoxidable (8) para determinar la absorción de la dieta, del nitrógeno y de la grasa.

Al finalizar el experimento se sacrificaron la totalidad de los animales, se diseccionaron los intestinos, se midieron y anotaron las observaciones macroscópicas y se procesaron para su observación microscópica utilizando la técnica de inclusión en parafina y coloración de Hematoxilina-Eosina.

Determinaciones químicas en dietas y heces: Se determinó el contenido de agua, secando las muestras hasta peso constante en una estufa a 105°C. El contenido de nitrógeno se determinó por el método colorimétrico de Hevia & Cioccia, 1988 (14) y el de grasa por el método modificado de Blight & Dyer, 1959 (15).

Determinación de la absorción aparente de la dieta, nitrógeno y grasa: La absorción aparente de la dieta, nitrógeno y grasa se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Absorción aparente (\%)} = \frac{\text{Consumo} - \text{Pérdida en heces}}{\text{Consumo}} \times 100$$

Procesamiento de los tejidos para el análisis microscópico: El intestino delgado fue removido desde el píloro hasta la válvula ileocecal, se pesó e inmediatamente se midió y se tomó una sección de 2 cm en la sección del yeyuno. El intestino grueso fue igualmente removido desde el ciego hasta la porción terminal del colon descendente en su unión con el recto y se tomó una sección de 2 centímetros a nivel del colon transversal. Tanto las muestras de intestino delgado como de intestino grueso se fijaron en formol (90%) para ser procesadas para microscopía de luz. Las muestras de 2 cm de intestino delgado e intestino grueso de cada rata, se embebieron en parafina utilizando el Autotechnicon y de cada una se prepararon 18 cortes histológicos que luego se colorearon con Hematoxilina-eosina.

Evaluación histológica y estudios morfométricos: En cada uno de los cortes histológicos bajo el microscopio, se inspeccionó el aspecto de la mucosa y de las células del epitelio de revestimiento, además se realizaron mediciones morfométricas en las vellosidades y criptas. Para estas mediciones, se seleccionaron 10 campos en cada una de las preparaciones histológicas y en estos, se midió el grosor de la pared, la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas, y se contaron las figuras mitóticas y células caliciformes en la región de las criptas. Estas mediciones se realizaron al azar usando códigos que se identificaron con los grupos a los que pertenecían las muestras sólo una vez terminada la inspección total.

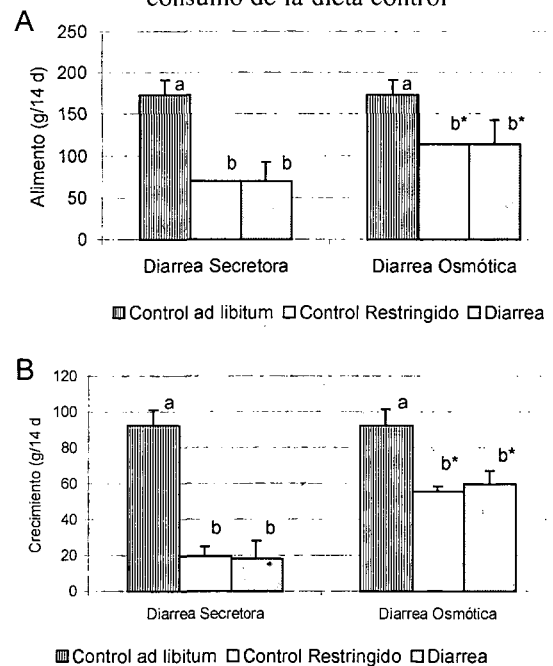
Análisis estadístico: Los resultados obtenidos se analizaron usando análisis de Varianza de Una Vía (16). Luego, las medias de cada grupo se compararon usando como prueba a posteriori los Rangos Múltiples de Duncan (17). En ambas pruebas, el nivel de significancia se fijó en un 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Diarrea, crecimiento y consumo. La Figura 1 muestra que tanto la diarrea osmótica como la secretora estuvo asociada con una reducción del consumo de alimento, lo cual coincide con la disminución del consumo observada en niños con diarreas de diferentes etiologías (7,18,19). Esta reducción fue del 59.7% en el caso de la diarrea secretora y de 34.1% en el caso de la diarrea osmótica.

FIGURA 1

Consumo de alimento (A) y crecimiento (B) de ratas sin diarrea que recibieron la dieta control ad libitum, de ratas con diarrea secretora u osmótica producida con laxantes (1) y de ratas sin diarrea a las que se les restringió (2) el consumo de la dieta control



Las barras muestran la media \pm la desviación típica de 7 ratas.

1. La diarrea secretora fue producida con 3.8 % de bisoxatin acetato en la dieta y la diarrea osmótica fue inducida con un 44 % de lactosa en la dieta.
2. En ambos paneles, los controles restringidos consumieron la misma cantidad de dieta sin laxante que las medidas en las ratas con diarrea mientras que las controles ad libitum tuvieron libre acceso a esta misma dieta.

a-b. En cada variable (consumo o crecimiento), barras con letras distintas son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

* Diferencia significativa entre tratamientos

Al inicio del experimento, ambos laxantes produjeron reducciones semejantes del consumo que se detectaron de inmediato. Sin embargo, las ratas que consumían lactosa, de acuerdo con observaciones anteriores (8) con el transcurso del tiempo, se adaptaron parcialmente al consumo de este carbohidrato y aumentaron su ingesta. En contraste, las ratas expuestas al bisoxatin acetato no mostraron este comportamiento y la reducción de consumo, detectada al inicio, se mantuvo constante durante todo el experimento.

La Figura 1 muestra además que los dos grupos de ratas con diarrea crecieron menos. Sin embargo, el retardo en el crecimiento en las ratas con diarrea secretora fue mayor que el observado en las ratas con diarrea osmótica, pero en ambos casos la desnutrición producida por la diarrea fue evidente. Estos resultados también concuerdan con los efectos de la diarrea sobre el estado nutricional en niños (7).

Finalmente, la Figura 1 señala que la restricción del consumo produjo reducciones del crecimiento similares a las observadas en las ratas con diarrea. Lo cual, permitió disponer de ratas con y sin diarrea con los mismos niveles de desnutrición. Estos resultados también indican que en este caso, tal como se ha sugerido en niños (7), los efectos negativos de la diarrea sobre la nutrición, están asociados principalmente con la anorexia que produce.

Laxantes y masa fecal. La Figura 2 muestra el efecto que tuvieron los laxantes utilizados para producir diarrea, secretora u osmótica, sobre la masa fecal. Se observa que con ambos laxantes, la producción de heces aumentó con respecto a las ratas que consumieron la dieta control. Este aumento se detectó tanto en las heces húmedas como en las heces secas, indicando que la diarrea no sólo produce un aumento en el contenido de agua sino también en el contenido de sólidos de las heces.

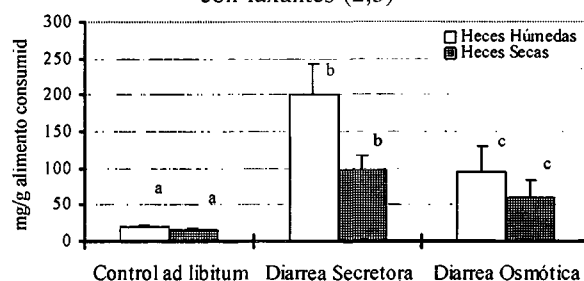
La idea de expresar la masa fecal en función del alimento consumido, la motivó el hecho de que la producción de heces depende de la cantidad de alimento consumido. Así, la excreción fecal de las ratas que recibieron la dieta control ad libitum, o restringida a los niveles de la diarrea secretora y osmótica, sin corregir por la cantidad de alimento consumido, fue de 0.9, 0.28 y 0.56 g/3d respectivamente. Sin embargo, estas diferencias se deben exclusivamente a las diferencias de consumo ya que después de corregidas, estos mismos valores fueron muy similares y alcanzaron 19.9, 18.8 y 20.2 mg de heces húmedas por gramo de alimento consumido. Esto, justifica la corrección utilizada aquí, para poder comparar la excreción fecal en animales con consumos de alimento tan diferentes como los mostrados en la Figura 1.

Algo que destaca en la Figura 2, es que la masa fecal de las ratas con diarrea secretora fue mayor que la de las ratas con diarrea osmótica. Esto, resulta de la adaptación de las ratas al consumo de lactosa y no al consumo de bisoxatin

acetato. La adaptación de las ratas al consumo de lactosa, ya se ha reportado (8) y resulta en una mejora progresiva en el consumo y crecimiento y en una disminución en la severidad de la diarrea. Esta adaptación depende del tiempo de exposición a la lactosa y se expresó aquí, debido a que, con el fin de dar mayor oportunidad a que estos laxantes produjeran cambios en la estructura del intestino, el experimento se prolongó por 14 días. Es posible que si las variables recién discutidas se hubieran medido durante los primeros días del experimento, el efecto de los dos laxantes hubiera sido similar en magnitud.

FIGURA 2

Masa fecal (1) de ratas controles y con diarrea producida con laxantes (2,3)



1. La masa fecal húmeda se refiere a la suma del peso de las heces diarias recolectadas durante los días 11-13 del experimento.
2. La masa fecal seca se refiere al peso de las heces luego de secadas a 105 grados C en sus rejillas de recolección. En ambos casos, el peso de las heces se expresó en función del alimento consumido para uniformar los resultados obtenidos.
3. La diarrea secretora fue producida con 3.8 % de bisoxatin acetato en la dieta y la diarrea osmótica fue inducida con un 44 % de lactosa en la dieta.
4. No se incluyeron las masas fecales de los controles cuyo consumo se restringió ya que su excreción fecal corregida por el consumo de alimento fue idéntico al observado en las ratas que consumieron la dieta control ad libitum.

Función intestinal. La principal función del intestino es permitir la absorción de los nutrientes dietarios. Con el fin de evaluar esta función, en este estudio se determinó la absorción aparente de la dieta, de la grasa y del nitrógeno consumidos por las ratas a las que se les ofreció la dieta control ad libitum o en forma restringida y en las ratas a las que se les indujo diarrea secretora o diarrea osmótica. Los resultados de estas determinaciones se muestran en la Tabla 2 en la que de acuerdo con la discusión anterior, las ratas que consumieron la dieta control ad libitum son ratas bien nutridas, las ratas a las que se les restringió el consumo de esta misma dieta, son ratas desnutridas sin diarrea, mientras que las ratas que recibieron las dietas con laxantes tenían, además de desnutrición, diarrea.

TABLE 2
Absorción Aparente de la dieta, la grasa y el nitrógeno en ratas que consumieron la dieta control ad libitum y restringida y en ratas con diarrea producida con laxantes

Absorción aparente (%)	Consumo ad libitum	Dieta Control		Dieta con Laxantes	
		Consumo restringido según DS (1)	Consumo restringido según DO (2)	Diarrea secretora DS (3)	Diarrea osmótica DO (4)
Dieta	98.5±0.21a	98.1±1.24 a	98.3±0.39 a	88.2±4.44b	92.5±3.5 a
Grasa	96.6±0.64 a	95.2±2.23 a	96.3±1.30 a	84.6±7.84 b	86.7±6.56 b
Nitrógeno	97.8±0.47 a	97.3±2.25 a	97.5±0.77 a	83.3±6.59c	88.3±5.86 b

La Tabla muestra la media \pm la desviación típica de 7 ratas (a-c). Medias con letras diferentes son diferentes ($P < 0.05$) de acuerdo a la prueba de los rangos múltiples de Duncan.

1. A estas ratas se les ofreció la misma cantidad de alimento que consumieron las ratas con diarrea secretora.
2. Recibieron la misma cantidad de alimento que las ratas con diarrea osmótica.
3. La diarrea secretora se produjo incorporando bisoxatin acetato al 3.8% en la dieta a expensas del almidón.
4. La diarrea osmótica se produjo reemplazando el 44% del almidón dietario por lactosa.

La Tabla 2 señala que la desnutrición sin diarrea no tuvo ningún efecto sobre la digestibilidad de la dieta, la grasa dietaria o el nitrógeno dietario. Así, a pesar de que el crecimiento de las ratas asignadas a los grupos restringidos fue sustancialmente menor que el de las ratas que consumieron la misma dieta ad libitum, la función intestinal determinada en la forma en que se la midió aquí, no se afectó. Estos resultados están de acuerdo con observaciones anteriores (20) que indican que desnutriciones calórico-proteicas de una duración similar a la observada en este experimento, no afectan la capacidad del intestino de absorber los macronutrientes dietarios.

En contraste con lo observado en las ratas desnutridas sin diarrea, la desnutrición con diarrea sí afectó la función intestinal. Así, las ratas con diarrea secretora mostraron una menor capacidad de absorber la dieta en su totalidad, la grasa y el nitrógeno dietario. En el caso de la diarrea osmótica, aun cuando, no se afectó la capacidad de absorber la dieta como tal, sí se redujo la capacidad de absorber componentes específicos presentes en ella, como fueron la grasa y el nitrógeno. Como los niveles de desnutrición detectados en las ratas con diarrea secretora u osmótica fueron idénticas a las impuestas aquí, a sus respectivos grupos restringidos, se puede concluir que los efectos sobre la función intestinal observados en las ratas con diarrea osmótica o secretora, estuvieron asociados con la diarrea y no con la desnutrición que esta les produjo.

Adicionalmente a estas observaciones, los datos de la Tabla 2 señalan que la diarrea secretora tuvo un efecto más negativo sobre la digestibilidad de la dieta, la grasa y el nitrógeno o en general sobre la función intestinal, que la diarrea osmótica. Estos resultados no indican necesariamente que la naturaleza de la diarrea tenga un efecto específico sobre la función intestinal ya que en estudios anteriores tanto en niños con diarreas de diferentes etiologías (19) como en

ratas (7), la capacidad de absorber los macronutrientes, es inversamente proporcional a la severidad de la diarrea. De acuerdo con esas observaciones, en el presente estudio, coincidió que la diarrea más severa estuvo asociada con las absorciones más bajas y esto se observó en las ratas con diarrea secretora.

Morfometría intestinal. La Tabla 3 muestra el peso, el largo del intestino delgado, así como el grosor de la capa muscular de este intestino en las ratas estudiadas. Comparando estas medidas en las ratas que consumieron la dieta control, se aprecia que la restricción del consumo de esta dieta y la desnutrición que esta restricción produjo, estuvo asociada con intestinos más livianos y cortos y con una reducción en el grosor de la pared muscular. Estos cambios fueron más aparentes en las ratas asignadas al grupo cuyo consumo de alimento se restringió más y que en consecuencia eran también las más desnutridas. En contraste con este efecto de la desnutrición, la Tabla 3 muestra que las ratas con desnutrición y diarrea ya sea osmótica o secretora tenían intestinos más pesados, más largos y con una pared más gruesa que los desnutridos sin diarrea. Estas ratas, aunque pesaban sustancialmente menos que las bien nutridas (controles ad libitum) tenían, en general, dimensiones intestinales iguales o mayores, indicando que la diarrea causa una hipertrofia de este órgano. Aunque los datos anteriores demuestran que la diarrea aumenta el peso, la longitud y el grosor del intestino delgado, la magnitud de este aumento es difícil de apreciar ya que los animales bien nutridos eran mucho más pesados que los desnutridos con o sin diarrea por lo que naturalmente tenían intestinos mayores. Por esta razón, se corrigieron las medidas anteriores por el peso de los animales. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 3 como peso, longitud y grosores intestinales relativos al peso corporal de cada grupo. Expresando los

valores en esta forma, se puede concluir que la desnutrición no afecta ni el peso ni el grosor del intestino, pero en casos de desnutriciones severas, como ocurrió en el grupo en que

la oferta de dieta se redujo a lo medido en las ratas con diarrea secretora, la desnutrición estuvo asociada con un aumento en la longitud del intestino delgado.

TABLA 3

Morfometría del intestino delgado de ratas que consumieron la dieta control ad libitum y restringida y de ratas con diarrea producida con laxantes

Intestino delgado	Consumo ad libitum	Dieta Control		Dieta con Laxantes	
		Consumo restringido según DS (1)	Consumo restringido según DO (2)	Diarrea secretora DS (3)	Diarrea osmótica DO (4)
Peso (g)	5.8 ± 1.75 a	2.7 ± 0.27 b	4.2 ± 0.26 c	7.4 ± 1.87 d	7.7 ± 1.73 d
Largo (cm)	100.3 ± 8.31 a	74.8 ± 3.29 b	77.0 ± 10.76 b	98.8 ± 8.64 ab	105.8 ± 8.14 a
Grosor de la pared (mm)	5.1 ± 1.17 a	2.6 ± 0.62 b	4.7 ± 1.11 a	4.7 ± 0.88 a	5.2 ± 0.95 a
Peso relativo 5 (mg/g)	36.1 ± 8.57 a	34.3 ± 1.13 a	36.7 ± 2.09 a	112.2 ± 12.9 b	66.1 ± 9.61 c
Largo relativo 5 (cm/g)	0.6 ± 0.05 a	1.1 ± 0.06 b	0.7 ± 0.09 a	1.5 ± 0.28 c	1.2 ± 0.23 bc
Grosor de la pared relativo 5 (µm/g)	30.0 ± 10.25 a	30.1 ± 10.11 a	40.5 ± 10.2 a	80.2 ± 20.5 b	40.1 ± 10.2 a

La Tabla muestra la media ± la desviación típica de 7 ratas (a-c). Medias con letras diferentes son diferentes ($P < 0.05$) de acuerdo a la prueba de los rangos múltiples de Duncan.

1. A estas ratas se les ofreció la misma cantidad de alimento que consumieron las ratas con diarrea secretora.
2. Recibieron la misma cantidad de alimento que las ratas con diarrea osmótica.
3. La diarrea secretora se produjo incorporando bisoxatin acetato al 3.8% en la dieta a expensas del almidón.
4. La diarrea osmótica se produjo reemplazando el 44% del almidón dietario por lactosa.
5. Magnitud de variable dividido por el peso de la rata de la que se obtuvo el intestino.

En contraste con el escaso efecto de la desnutrición sobre estas medidas intestinales, la diarrea produjo un aumento notable en todas estas medidas. Este aumento fue proporcional a la severidad de la diarrea ya que las ratas con diarrea secretora, que fue la más severa de las diarreas inducidas aquí con laxantes, fueron las que mostraron una mayor hipertrofia del intestino delgado. De acuerdo con esto los coeficientes de correlación entre la masa fecal excretada y el peso, longitud y grosor del intestino delgado en todas las ratas estudiadas fue de $r = 0.99$, $r = 0.94$ y $r = 0.85$ respectivamente. Estos altos coeficientes de correlación indican que las medidas intestinales de todas las ratas estudiadas, independientemente de si tenían diarrea o no o del tipo de diarrea que se les indujo, se ordenaron bien en líneas rectas, de acuerdo, exclusivamente, a la magnitud de la masa fecal excretada.

La dependencia del tamaño del intestino delgado de la masa fecal, descrito aquí, está de acuerdo con las observaciones de Elsenhans y colaboradores (21), que detectaron un aumento en la longitud del intestino en respuesta a consumos de carbohidratos no digeribles. Estos autores, atribuyeron estos cambios al estímulo mecánico ejercido por el volumen y flujo peristáltico sobre la mucosa intestinal y sus capas musculares subyacentes. Sin embargo, el aumento en la longitud del intestino delgado, detectado en las ratas sin diarrea pero con un consumo de alimento

restringido al nivel medido en las ratas con diarrea secretora, sugiere que parte de este aumento, pudiera reflejar una respuesta compensatoria que se manifiesta en desnutriciones severas y que pudiera contribuir a aumentar la capacidad de absorber los nutrientes consumidos.

Los tratamientos estudiados, también afectaron el tamaño del intestino grueso. Sin embargo, en esta región del intestino, los cambios morfométricos observados, fueron lo opuesto de lo descrito en relación con el intestino delgado. Así, mientras en el intestino delgado la mayor hipertrofia se detectó en las ratas con diarrea secretora, las ratas con diarrea osmótica tenían intestinos gruesos notablemente más voluminosos que aquellas con diarrea secretora. Esto, se reflejó especialmente en el peso relativo del intestino grueso que, aunque fue siempre mayor en las ratas con diarrea que en las controles nutridas o desnutridas, en las ratas con diarrea secretora se duplicó mientras que en aquellas con diarrea osmótica fue cuatro veces mayor a el observado en las ratas bien nutridas.

Morfología del yeyuno. La Tabla 4 muestra el efecto de los tratamientos estudiados sobre algunos aspectos de la morfología del yeyuno, observados bajo el microscopio de luz, en cortes coloreados con hematoxilina-eosina. Comparando, el tamaño de las vellosidades y criptas, se observa que los cambios más notables, ocurrieron en las ratas

sin diarrea pero desnutridas a los niveles observados en la diarrea secretora. Estas ratas junto con las ratas con diarrea secretora fueron las que mostraron las desnutriciones más severas del experimento pero sólo las desnutridas mostraron una notable disminución en la altura de las vellosidades, en

la profundidad de las criptas y en el cociente entre estas dos medidas. Estos resultados no sorprenden ya que tradicionalmente estos cambios, se han asociado con problemas de desnutrición (22) o de la inactividad del intestino que resulta de la alimentación parenteral total (23).

TABLA 4
Medidas morfológicas del intestino delgado de ratas que consumieron la dieta control ad libitum y restringida y de ratas con diarrea producida con laxantes

Intestino delgado	Consumo ad libitum	Dieta Control		Dieta con Laxantes	
		Consumo restringido según DS (1)	Consumo restringido según DO(2)	Diarrea secretora DS (3)	Diarrea osmótica DO (4)
Altura de las vellosidades (μm)	4.4 \pm 1.20 a	2.2 \pm 0.39 b	4.2 \pm 0.93 a	4.2 \pm 0.81 a	4.0 \pm 1.02 a
Profundidad de las criptas (μm)	1.3 \pm 0.31 a	0.90 \pm 0.15 b	1.3 \pm 0.30 a	1.3 \pm 0.14 a	1.2 \pm 0.15 ab
Altura vellosidades	3.7 \pm 0.81 a	2.4 \pm 0.34 b	3.4 \pm 0.51 a	3.4 \pm 0.56 a	3.4 \pm 1.01 a
Número de mitosis	1.93 \pm 1.21 a	1.30 \pm 1.22 b	1.82 \pm 1.07 ab	3.27 \pm 1.53d	3.10 \pm 1.71 d
Número células caliciformes	6.1 \pm 2.47 a	5.7 \pm 2.41 b	6.7 \pm 3.36 a	5.6 \pm 3.14 b	8.9 \pm 2.83 c

La Tabla muestra la media \pm la desviación típica de 7 ratas (a-c). Medias con letras diferentes son diferentes ($P < 0.05$) de acuerdo a la prueba de los rangos múltiples de Duncan.

1. A estas ratas se les ofreció la misma cantidad de alimento que consumieron las ratas con diarrea secretora.
2. Recibieron la misma cantidad de alimento que las ratas con diarrea osmótica.
3. La diarrea secretora se produjo incorporando bisoxatin acetato al 3.8% en la dieta a expensas del almidón.
4. La diarrea osmótica se produjo reemplazando el 44% del almidón dietario por lactosa.

La Tabla 4 indica además que estos cambios morfológicos de la mucosa, requieren de una desnutrición severa ya que las ratas a las que se les restringió el consumo al nivel de las que tenían diarrea osmótica y que no estaban tan desnutridas como las anteriores, tenían vellosidades y criptas similares a las ratas que consumieron la dieta control ad libitum y que estaban bien nutridas.

En contraste con los resultados recién descritos, lo que sorprende en la Tabla 4 es que la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas de las ratas con diarrea eran idénticas a las medidas en las ratas controles bien nutridas. Esto, a pesar de que las ratas con diarrea osmótica tenían cierto grado de desnutrición y que las ratas con diarrea secretora estaban severamente desnutridas. Por esta razón, se concluye que el aplanamiento de las vellosidades y criptas debe ser resultado de la desnutrición y no de la diarrea. La diarrea más bien, evitó este aplanamiento, tal como lo demuestra la comparación de la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas en las ratas con diarrea secretora y sus controles restringidos. Estos dos grupos estaban igualmente desnutridos pero sólo los que recibieron el laxante tenían diarrea con vellosidades y criptas normales.

Adicionalmente a los cambios en el tamaño de las vellosidades y criptas asociados con la desnutrición y la diarrea, el estudio histológico del yeyuno, reveló que el

número de figuras mitóticas presentes en las criptas se redujo ligeramente en los grupos desnutridos sin diarrea mientras que en los grupos desnutridos con diarrea, independientemente de si era secretora u osmótica, el número de células en esta condición, aumentó substancialmente. Esto, indica que los dos tipos de laxantes utilizados en este estudio, a pesar de la desnutrición que produjeron, estimularon los procesos de división celular en esta región del intestino (24) y probablemente, esto justifica la hipertrofia del intestino delgado que se observó aquí, exclusivamente en las ratas desnutridas con diarrea.

Así como, la capacidad de absorber la grasa y proteína de la dieta, el tamaño del intestino delgado, la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas y el número de figuras mitóticas respondieron al hecho de tener diarrea o a la severidad de la misma, sin diferencias sustanciales entre el tipo de diarrea, la Tabla 4 indica que el número de células caliciformes aumentó considerablemente, sólo en el caso de la diarrea osmótica. En este tipo de diarrea, se observó además un daño al nivel de la mucosa intestinal caracterizado por un aspecto vesiculoso del citoplasma supranuclear de los enterocitos y la presencia de zonas de discontinuidad de la chapa estriada en la superficie apical de las células absorbentes. El aumento en las células caliciformes en este tipo de diarrea, posiblemente represente un mecanismo de

adaptación para aumentar la producción de moco y así, reducir el efecto de la lactosa que se utilizó para producir la diarrea osmótica. Una situación similar se ha observado por la acción de sustancias irritantes (25) y también en dietas con exceso de lactosa (12).

El daño del borde estriado, observado aquí en las ratas con diarrea osmótica, también se ha observado en caso de diarreas producidas por infecciones con *Giardia* y *Yersinia Enterocolítica* (26) y se le ha asociado con una disminución en las disacaridasas. Estas observaciones también coinciden con las de Bueno y col. (12) que observaron en los enterocitos de ratas con diarrea producida por lactosa, extensas regiones con daño de las microvellosidades y pérdida de la delimitación del área celular.

Además de estos profundos cambios en la morfología del yeyuno observados en las ratas con diarrea osmótica, los dos tipos de diarrea estudiados aquí, produjeron una reacción inflamatoria al nivel de la mucosa de esta región del intestino, caracterizada por una infiltración celular, principalmente por linfocitos que se detectaron tanto en la mucosa como en la submucosa y el epitelio de revestimiento. Es posible que el deterioro del estado nutricional de la vitamina E, observado en ratas con diarrea osmótica inducida con lactosa, (8) esté asociado con este proceso inflamatorio.

Las observaciones microscópicas realizadas a nivel del colon, mostraron también un aumento en el número de células caliciformes hacia el fondo de las criptas, exclusivamente en el caso de la diarrea osmótica. Asimismo, en este tipo de diarrea, se observaron formaciones saculares en la pared con aspecto de vesículas llenas de un líquido seroso. En contraste, en las ratas con diarrea secretora, la morfología del colon fue muy similar a la observada en las ratas controles.

Es posible que los cambios morfológicos, observados aquí en el colon de las ratas con diarrea osmótica, sean en parte responsables por la aparente hipertrofia y distensión del colon que se detectó durante la autopsia de esta ratas.

CONCLUSION

El diseño experimental utilizado, permitió diferenciar los efectos de la diarrea de los asociados con la desnutrición que esta patología produce, en relación con la función y la estructura del aparato gastrointestinal. A diferencia de lo esperado, los dos efectos no fueron aditivos, sino que la diarrea modificó completamente los efectos producidos por la desnutrición. Así, la desnutrición aislada, no tuvo mayores consecuencias en relación con las medidas intestinales y cuando fue severa produjo un aplanamiento de las vellosidades que no tuvo efectos en su función absorbente. En contraste, la diarrea tuvo un marcado efecto trófico sobre todas las medidas intestinales y evitó la atrofia de las

vellosidades causada por la desnutrición. Sin embargo, esto no fue suficiente para compensar completamente la capacidad de absorber los nutrientes dietarios.

La inclusión de dos tipos de laxantes, que produjeron diarreas de diferente severidad y efectos distintos sobre la morfología intestinal permitió establecer la importancia de estos cambios morfológicos sobre la función intestinal. Así, aunque la diarrea osmótica produjo las alteraciones morfológicas más severas tanto a nivel del yeyuno como en colon, fue mayor la absorción de la proteína y la grasa dietaria. Esto indica que, los cambios morfológicos producidos por los laxantes no fueron determinantes en relación con la función intestinal. Parece más bien, que lo que determinó la capacidad de absorber fue la severidad de la diarrea producida, ya que las ratas con diarrea secretora presentaron menos alteraciones morfológicas, pero diarreas más severas. Quizás lo que determine la capacidad de absorber los macronutrientes, sea el tiempo de contacto entre los nutrientes y la mucosa más que la integridad de la mucosa.

Este estudio, permitió establecer que, en ratas, la diarrea, provoca un efecto trófico en el intestino proporcional a su severidad. Es posible que este aumento en el tamaño del intestino así como en la altura de las vellosidades, sea un factor adaptativo estimulado por la diarrea que evita mayor pérdida de la función absorbente en una situación en la cual el tiempo de tránsito intestinal disminuye y la morfología del intestino sufre alteraciones importantes.

REFERENCIAS

1. WHO. The World Health Report. Bridging the Gaps. Report of the Director General, Ginebra, Suiza, 1995.
2. Gracey M. Diarrheal Disease in Perspective. En: Workshop, Series Vol 38. Nestlé Ltda., Vevey/Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, 1997.
3. OPS. Venezuela. En: La salud en las Américas. Oficina Sanitaria Panamericana. Vol II. Pub. No. 569. Washington, D.C, 1998:581-586.
4. Ministerio de Salud y Asistencia Social. Dirección de Epidemiología y Programas de Salud. Departamento de Vigilancia Epidemiológica. Caracas, 1998.
5. Mata LJ, Kronma RA, Urrutia JJ y García B. Effect of infection on food intake and the nutritional state: perspectives as viewed from a village. Am J Clin Nutr 1977;30:1215-1227.
6. Bahan MK y Bhandari N. Epidemiology of Persistent Diarrhea. En Workshop, Series Vol 38. Nestlé Ltda., Vevey/Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, 1997.
7. Hevia P, Carías D, Cioccia AM y González E. Diarrea y Desnutrición: Experiencia en niños y ratas. Anales Venezolanos de Nutrición 1998;11:28-36.
8. Liuzzi J P, Cioccia AM y Hevia P. In well-fed young rats, Lactose-induced Chronic reduces the apparent absorption of vitamins A and E and affects preferentially vitamin E status. J Nutr 1998;128:2467-2472.

9. Greene HL y Morán R. The Gastrointestinal Tract: Regulator of Nutrient Absorption. En: Shils ME, Olson JA y Shike M, edit. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 8th Edition. Vol 1. Philadelphia, 1994:549- 568.
10. FAO. Protein Quality Evaluation. Food and Nutrition Paper No 51. Rome, 1991.
11. Wisker E, Bach Knudsen KE, Daniel M, Feldheim W y Eggum BO. Digestibilities of Energy, Fat and nonstarch polysaccharides in a low fiber diet and diets containing coarse or fine whole meal rye are comparable in rats and humans. *J Nutr* 1996;126:481-488.
12. Bueno J, Torres M, Almendros A, Carmona R, Nuñez MC, Ríos A y Gil A. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea: Histological and ultrastructural changes. *Gut*. 1994;33:926-933.
13. American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr*, 1977; 107:1340-8.
14. Hevia P y Cioccia A. Application of a colorimetric method to the determination of the nitrogen in nutritional studies with rats and humans. *Nutr Rep Int* 1988;38(6):1129-1136.
15. Blight E y Dyer W. A rapid method of total lipids extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1958;37:911.
16. Steel RG y Torrie JH. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2ª ed. McGraw Hill, México, 1998.
17. Duncan DB. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 1955;11:1-6.
18. Cioccia AM, González E, Pérez M, Mora JA, Römer H, Molina E y Hevia P. Application of a colorimetric method to the determination of the protein content of commercial foods, mixed human diets and nitrogen losses in infantile diarrhoea. *Int J Food Sci Nutr* 1995;46(1):21-29.
19. Römer H, Páez M, Hevia P, Piña JM, Urrustera MI, Perez-Schael I. Estudio comparativo de las pérdidas en las heces de nitrógeno, lípidos y energía en niños deshidratados por diarrea aguda debido a rotavirus y otros agentes. *GEN* 1989;43(1):23-7.
20. Arciniegas EL, Cioccia AM y Hevia P. Efecto de la diarrea inducida con lactosa sobre la disponibilidad de los macronutrientes y la función inmune en ratas nutridas y desnutridas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2000;50(1):48-54.
21. Elsenhans B, Blume R y Caspary W. Long-term feeding of unavailable carbohydrate gelling agents. Influence of dietary concentration and microbiological degradation on adaptive response in the rat. *Am J Clin Nutr* 1981;34:1837-48.
22. Altman G. Influence of starvation and refeeding on mucosal size and epithelial renewal in the rat small intestine. *Am J Anat* 1972;133:391-400.
23. Levine G, Deren J y Steiger E. Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharidase activity. *Gastroenterology* 1974;67:975-82.
24. Wong WM y Wright NA. Epidermal growth factor, epidermal growth factor receptors, intestinal growth and adaptation. *J Parenteral and Enteral Nutrition* 1999;23:S83-S88.
25. Neutra MR, O'Malley LJ y Specian RD. Regulation of intestinal goblet cell secretion. II. A survey of potential secretagogues. *Am J Physiol* 1982;242(4):G380-7.
26. O'Loughlin E, Scott R y Gall D. Pathophysiology of Infectious Diarrhea: Changes in Intestinal Structure and Function. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12: 5-20.

Recibido: 19-09-2000

Aceptado: 13-11-2001