

Rev Inv Vet Perú 2012; 23(1): 20-26

pH DE LA SUPERFICIE LUMINAL DE LA MUCOSA GASTROINTESTINAL DE CRÍAS DE ALPACAS DURANTE LAS PRIMERAS SEMANAS DE EDAD

pH OF THE LUMINAL SURFACE OF THE GASTROINTESTINAL MUCOSA OF BABY ALPACAS DURING THE FIRST WEEKS OF AGE

**María Vásquez C.^{1,2}, José Rodríguez G.¹, Boris Lira M.¹, Sergio Cueva M.¹,
Milder Ayón S.¹, Yenny Mallma D.¹**

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el pH de la superficie de la mucosa de los compartimentos estomacales y de los segmentos intestinales en los primeros 45 días de vida postnatal en la alpaca (*Vicugna pacos*). Se trabajó con 33 animales, procedentes de los departamentos de Puno y Cusco, desde el nacimiento (recién nacido - RN) hasta los 45 días de edad. Los animales fueron distribuidos en siete grupos etarios. El pH se determinó con un pH metro Metrohm 826 mobile con electrodo plano especial para membranas. Los animales fueron sacrificados y el tracto gastrointestinal fue delimitado en 13 porciones. En cada porción se hizo una apertura de 8 cm para determinar el pH de forma directa sobre la mucosa. El pH en los compartimentos 1, 2 y 3 porción abomaso fue menor en los RN ($p < 0.05$), se incrementó en la primera semana de edad y se mantuvo constante hasta los 45 días de edad. El pH en las porciones intestinales fue constante en los grupos etarios, aunque se observó una ligera tendencia a la acidez en el intestino delgado y una tendencia a la neutralidad en el intestino grueso, lo que sugiere que las alpacas de estas edades tienen diversos mecanismos homeostáticos que mantienen constante el pH del microclima en todo el tracto gastrointestinal a pesar de los cambios en la alimentación durante su desarrollo inicial.

Palabras clave: pH, mucosa gastrointestinal, alpaca

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the pH in the luminal mucosa of the gastric compartments and intestinal segments during the first 45 postnatal days of age in the alpaca (*Vicugna pacos*). Thirty three alpacas from birth to 45 days of age were distributed in seven age groups. The animals proceeded from the Puno and Cusco departments of Peru. The pH was measured using a 826 pH mobile meter with a special

¹ Laboratorio de Fisiología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

² E-mail: evasquezc@gmail.com

flat electrode for membranes. Animals were slaughtered and the gastrointestinal tract was divided in 13 segments. An 8-cm length opening was done in each segment and pH was directly measured over the mucosa. The pH of compartments 1, 2 and 3 (segment abomasum) was lower at birth ($p < 0.05$), increased during the first week and kept constant until 45 days of age. The pH in the intestinal segments was constant in all age groups, but there was a slight tendency to acidity in the small intestine and a tendency to neutrality in the large intestine. This suggests that alpacas of these ages have homeostatic mechanisms for maintaining constant the pH of the microclimate in the gastrointestinal tract despite the change of feeds during the first phase of postnatal life.

Key words: pH, gastrointestinal mucosa, alpaca

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos presentan un sistema digestivo similar al de los ruminantes, pero presenta ciertas características fisiológicas que favorece la degradación de pasturas con alto contenido de fibra. Este sistema digestivo está compuesto por tres compartimentos estomacales: compartimento 1 (parecido al rumen), compartimento 2 (parecido al retículo), y compartimento 3 (con una porción similar al omaso y una porción parecida al abomaso) (Vallenas *et al.*, 1971); además del intestino delgado, ciego y colon (colon ascendente, colon transverso y colon descendente) (Sato y Montoya, 1989; Paredes, 2010).

El proceso digestivo y absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal se encuentra favorecido por el pH de la mucosa intestinal. El pH se encuentra en un amplio rango, es decir, entre 1.0 a 8.0, dependiendo del sector involucrado. El pH del estómago varía entre 1.0 a 3.0, en el intestino delgado de 5.0 a 7.0 y en el intestino grueso es alrededor de 8.0. El mantenimiento de estos valores influyen positivamente en la homeostasis celular, así como en la absorción de nutrientes y fármacos.

El pH de la mucosa gastrointestinal se debe la presencia de sustancias secretadas por los enterocitos y agentes microbianos residentes en el intestino (Castell y Moore,

1971), así como a la secreción de otros grupos celulares como las células caliciformes y las células de Paneth. Cambios en el pH extracelular cambian el pH intracelular de los enterocitos, que su vez modifican su función secretora y absorptiva utilizando diversos mecanismos para mantener su equilibrio intracelular; principalmente, con la secreción de fluidos ricos en H^+ y HCO_3^- , regulando de esta manera el pH intracelular (Shimada y Hoshi, 1987; Hoinard y Gore, 1988; Wenzl *et al.*, 1989).

En el caso del yeyuno, su acidificación inhibe la secreción ácida del estómago por un mecanismo neurohormonal mediado por somatostatina y colecistocinina (CCK); modificando, además, la secreción de glándulas anexas y la contractibilidad del tracto gastrointestinal (Orloff *et al.*, 1992). El complejo mioeléctrico migratorio es gobernado por el pH duodenal (Woodtli y Owyang, 1995).

A nivel de colon, la alcalinización del pH favorece una eficiente absorción de electrolitos débiles como amoníaco y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Castell y Moore, 1971). El descenso del pH en el colon humano (McNeil *et al.*, 1987), en el ciego de la rata (Fleming *et al.*, 1991) y en el colon del cuy (Oltmer y von Engelhardt, 1994) afecta los índices de absorción de AGCC, dado que la superficie luminal del intestino grueso requiere un microclima con pH constante (Feldman y Ickes Jr, 1997). El transporte de di y tripéptidos a través del PEPT1 (trans-

portador de péptidos) en el intestino delgado está influenciado por el gradiente de protones y la acidificación del pH en el yeyuno (Daniel y Kottra, 2004), lo cual contribuye al transporte de nutrientes en el organismo (Chen *et al.*, 2010). También se sabe que el aumento en el pH intestinal por encima de 7.0 cambia la afinidad de los transportadores de sodio y fosfato, disminuyendo su absorción a nivel intestinal cuando llega a 7.6 (Danisi *et al.*, 1984).

Alteraciones del pH luminal en el tracto intestinal favorecen la presentación de enfermedades; así se tiene que la elevación del pH en el estómago y región pilórica del duodeno favorece el desarrollo de la infección con *Helicobacter pylori* e induce mecanismos de apoptosis en el epitelio (Suzuki *et al.*, 2002). Asimismo, la acidificación de la mucosa es una característica de la sepsis y está relacionada con cuadros de colitis ulcerativa que inducen la producción de óxido nítrico, lo cual incrementa la permeabilidad epitelial por daño del citoesqueleto mediado por oxidantes y depleción de ATP (Unno *et al.*, 1997).

Estudios en ratas y aves infectadas con *Trichinella zimbabwensis* han demostrado que el aumento del pH y osmolaridad del intestino facilitan el establecimiento y supervivencia del parásito (Tortora y Grabowski, 2003; Magwedere y Mukaratirwa, 2008). La infección con *Escherichia coli* está relacionada con la acidificación del intestino a través de la participación de uroguanilina y guanilina, que son ligandos exógenos para la guanilil ciclasa acoplada a membrana y que sirve como receptor para la enterotoxina de la bacteria, induciendo diarrea de tipo secretor (Vaandrager, 2002); estas dos proteínas son más efectivas en regiones ácidas del intestino delgado donde estimula la secreción de HCO_3^- y Cl^- vía transportadores de membrana (Joo *et al.*, 1988). La presentación de cuadros diarreicos causados por *E. coli*, *Clostridium* sp y parásitos en crías de alpacas (*Vicugna pacos*) es frecuente (Rivera, 1990), y se ha podido determinar que la mayoría de infecciones con *E. coli* están rela-

cionadas a un pH fecal entre 7.5 y 9.0, siendo el pH fecal normal entre 7.0 y 8.1.

No existen estudios sobre pH gastrointestinal normal y su influencia en cuadros de infecciones entéricas en camélidos sudamericanos. Por tal motivo, el presente estudio tuvo por objetivo determinar el pH luminal de varias porciones gastrointestinales en crías de alpacas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Animales

El estudio se llevó a cabo con alpacas provenientes de comunidades de los departamentos de Puno y Cusco, por encima de los 3500 msnm. El pH intestinal se determinó en la Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA-Maranganí, y el procesamiento de datos se realizó en el Laboratorio de Fisiología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Se emplearon 33 crías de alpaca, desde recién nacidas (RN) a 45 días de edad, distribuidas en siete grupos etarios: RN, 1-5, 6-11, 12-21, 27-31, 32-37 y 39-45 días de edad. Los animales utilizados en el presente estudio eran animales que los comuneros los habían destinado para el consumo humano. En el manejo y posterior sacrificio de los animales se siguió los "Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que implique el Uso de Animales" del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS, 1985).

Determinación de pH Intestinal

Inmediatamente posterior al sacrificio, se ingresó a la cavidad abdominal y se expuso las vísceras abdominales, removiendo el intestino delgado y grueso. Se hizo una incisión longitudinal de 5 a 8 cm en cada porción intestinal hasta observar la mucosa, para la determinación del pH.

El pH se determinó con un potenciómetro Metrohm 826 mobile, calibrado con la solución estándar del instrumento. La determinación de pH se realizó de forma directa, colocando el electrodo de membrana plana sobre la mucosa. Para esto, el tracto gastrointestinal se dividió en: compartimento 1 dorsal (C1 dorsal), compartimento 1 ventral (C1 ventral), compartimento 2 (C2), compartimento 3 omaso (C3 omaso), compartimento 3 abomaso (C3 abomaso), duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon ascendente (CA), colon transversal (CT), colon descendente (CD) y recto.

Los valores de pH intestinales fueron expresados como promedio. La comparación de los valores entre las porciones del tracto gastrointestinal se hizo por medio de un análisis de varianza de una sola vía.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH más bajo en los compartimentos 1, 2 y 3 porción omaso se presentó en el grupo etario de recién nacidos, para luego aumentar en la primera semana de edad ($p < 0.05$) y mantenerse constante en los grupos de edades mayores. En el caso del C3 abomaso, el pH fue ligeramente superior en el recién nacido, se incrementó durante la primera semana de edad, para ir descendiendo conforme aumenta la edad. El pH en esta sección fue estadísticamente mayor ($p < 0.05$) en los primeros días de edad en comparación a los valores de pH a partir de grupo etario de 27-31 días de edad (Cuadro 1).

Los valores de pH en los segmentos intestinales fueron constantes en los siete grupos etarios (Cuadro 2). No obstante, se pudo determinar una ligera acidez en el intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), que fue desde 6.24 ± 0.30 a 6.91 ± 0.33 , mientras que a nivel del intestino grueso (ciego, colon y recto) hubo tendencia a la neutralidad (6.52 ± 0.52 a 7.19 ± 0.17). La existencia de un pH constante del microclima en la superficie

luminal de la mucosa del intestino ha sido demostrada en otros estudios, empleando microelectrodos sensibles a pequeños cambios del pH (Rechkemmer *et al.*, 1986; McNeil, 1988).

Se ha demostrado que el pH del microclima de la superficie del intestino delgado es el resultado de un equilibrio dinámico entre la secreción y la absorción de H^+ a través de la membrana luminal (en condiciones normales la secreción de H^+ se considera predominante sobre su absorción) y la difusión de fluidos mucosos hacia la luz intestinal, los que contienen bases como el OH^- o HCO_3^- (Blair *et al.*, 1975).

La tendencia no significativa a la acidez a nivel del yeyuno en comparación con el íleon (Cuadro 2) fue confirmada por Hubel (1969), quien demostró que los dipéptidos y aminoácidos neutros se absorben mejor a nivel de yeyuno, ya que necesitan una mayor acidez para su absorción por usar un cotransportador que permite el ingreso de dipéptidos ante la mayor presencia de H^+ (Ganapathy y Leibach, 1983; Ganapathy *et al.*, 1984; Takuwa *et al.*, 1985). El pH de esta región tiene que mantenerse relativamente constante, pues tiene una influencia decisiva en la absorción de electrolitos débiles y de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Rechkemmer, 1991).

Por otro lado, estudios en yeyuno de diversas especies animales han demostrado que para que se mantenga el pH estable se requiere tener constante las concentraciones de H^+ ; sin embargo, estos niveles pueden sufrir modificaciones importantes en su concentración; por ejemplo, cuando se suprime el sodio en la dieta, el antiportador $Na^+ - H^+$ no permite la salida a la luz del H^+ ocurriendo un aumento del pH intestinal (Murer *et al.*, 1976; Gunther y Wright, 1983; Cassano *et al.*, 1984); pero momentos después de la supresión de Na^+ y del aumento del pH, este último comienza a disminuir y alcanzar sus valores normales como producto de otros mecanismos que secretan H^+ a la luz intestinal (Kinne-Saffra, 1985).

Cuadro 1. Valores de pH en las porciones gástricas en crías de alpaca de 0 a 45 días de edad

Edad (días)	N° de animales	C1 dorsal	C1 ventral	C2	C3 Omaso	C3 Abomaso
RN	2	3.93 ^a	5.81 ^a	4.66 ^a	3.70 ^a	3.96 ^{ab}
1-5	5	6.91 ^b	6.77 ^b	6.39 ^b	5.56 ^a	5.35 ^a
6-11	5	6.29 ^b	6.36 ^{ab}	6.53 ^b	4.70 ^a	4.53 ^{ab}
12-21	4	6.41 ^b	6.26 ^{ab}	6.43 ^b	4.20 ^a	4.05 ^{ab}
27-31	3	6.16 ^b	6.20 ^{ab}	6.47 ^b	5.79 ^a	2.99 ^b
32-37	5	6.28 ^b	6.38 ^{ab}	6.50 ^b	5.55 ^a	3.11 ^b
39-45	5	5.95 ^b	6.03 ^b	6.36 ^b	5.59 ^a	3.22 ^b

C: Compartimento; RN: recién nacido

^{a,b} Superíndices diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

Cuadro 2. Valores de pH intestinal en crías de alpaca de 0 a 45 días de edad

Edad (Días)	N° de animales	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	CA	CT	CD	Recto
RN	2	6.37	6.60	7.30	7.05	6.90	7.25	7.10	7.20
1-5	5	6.49	6.64	7.18	6.49	6.61	6.95	6.77	6.97
6-11	5	6.54	6.75	6.87	6.42	6.62	6.80	6.85	6.90
12-21	4	6.36	6.48	6.94	6.64	6.93	6.93	6.86	6.90
27-31	3	6.32	5.66	7.01	7.10	6.85	7.29	7.25	7.18
32-37	5	6.07	6.64	6.84	7.19	7.07	7.04	7.05	6.98
39-45	5	6.41	6.71	6.63	6.88	6.82	7.12	7.11	7.04

RN: recién nacido; CA: colon ascendente; CT: colon transversal; CD: colon descendente

CONCLUSIONES

- El pH en los compartimentos 1, 2 y 3 porción abomaso es menor en los recién nacidos que en animales entre el día 1 y 45 de edad ($p < 0.05$).
- Los valores de pH intestinal entre el nacimiento y los 45 días de edad fueron constantes.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al personal de la Estación Experimental IVITA- Maranganí, por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo. El estudio fue posible gracias al financiamiento del Proyecto PIBAP N° 68 del FINCYT-CONCYTEC.

LITERATURA CITADA

1. **Blair JA, Lucas ML, Matty AJ. 1975.** Acidification in the rat proximal jejunum. *J Physiol* 245: 333-350.
2. **Cassano G, Stieger B, Murer H. 1984.** Na/H- and Cl/OH- exchange in rat jejunal and rat proximal tubular brush border membrane vesicles. Studies with acridine orange. *Pflugers Arch* 400: 309-317.
3. **Castell DO, Moore EW. 1971.** Ammonia absorption from the human colon. The role of nonionic diffusion. *Gastroenterology* 60: 33-42.
4. **Chen M, Singh A, Xiao F, Dringenberg U, Wang J, Engelhardt R, Yeruva S, et al. 2010.** Gene ablation for PEPT1 in mice abolishes the effects of dipeptides on small intestinal fluid absorption, short-circuit current, and intracellular pH. *Am J Physiol Gastr L* 299: G265-G274.
5. **[CIOMS] Council for International Organizations of Medical Sciences. 1985.** International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. [Internet]. Available in: http://www.cioms.ch/publications/guidelines/1985_texts_of_guidelines.htm
6. **Daniel H, Kottra G. 2004.** The proton oligopeptide cotransporter family SLC15 in physiology and pharmacology. *Pflugers Arch* 447: 610-618.
7. **Danisi G, Murer H, Straub RW. 1984.** Effect of pH on phosphate transport into intestinal brush-border membrane vesicles. *Am J Physiol* 246: G180-G186.
8. **Feldman GM, Ickes JW Jr. 1997.** Net H⁺ and K⁺ fluxes across the apical surface of rat distal colon. *Am Physiol* 272: G54-G62.
9. **Fleming SE, Choi SY, Fitch MD. 1991.** Absorption of short-chain fatty acids from the rat cecum in vivo. *J Nutr* 121: 1787-1797.
10. **Ganapathy V, Burckhardt G, Leibach FH. 1984.** Characteristics of glycylsarcosine transport in rabbit intestinal brush-border membrane vesicles. *J Biol Chem* 259: 8954-8959.
11. **Ganapathy V, Leibach FH. 1983.** Role of pH gradient and membrane potential in dipeptide transport in intestinal and renal brush-border membrane vesicles from the rabbit. Studies with L-carnosine and glycyl-L-proline. *J Biol Chem* 258: 14189-14192.
12. **Gunther RD, Wright EM. 1983.** Na⁺, Li⁺, and Cl⁻ transport by brush border membranes from rabbit jejunum. *J Membrane Biol* 74: 85-94.
13. **Hoinard C, Gore J. 1988.** Cytoplasmic pH in isolated rat enterocytes. Role of Na⁺/H⁺ exchanger. *Biochim Biophys Acta* 941: 111-118.
14. **Hubel KA. 1969.** Effect of luminal chloride concentration on bicarbonate secretion in rat ileum. *Am J Physiol* 217: 40-45.
15. **Joo NS, London RM, Kim HD, Forte LR, Clarke LL. 1998.** Regulation of intestinal Cl⁻ and HCO₃⁻ secretion by uroguanylin. *Am J Physiol* 274: G633-G644.
16. **Kinne-Saffra E. 1985.** Transport function of renal cell membrane: ATP-driven transport system. In: Kinne R (ed). *Renal biochemistry: cells, membranes, molecules.* Amsterdam: Elsevier. p 143-174.
17. **Magwedere K, Mukaratirwa S. 2008.** Evaluation of intestinal pH and osmolality levels in rats (*Rattus norvegicus*) and chickens (*Gallus gallus*) experimentally infected with *Trichinella zimbabwensis*. *Intern J Appl Res Vet Med* 6: 166-174.
18. **McNeil NI, Ling KL, Wager J. 1987.** Mucosal surface pH of the large intestine of the rat and of normal and inflamed large intestine in man. *Gut* 28: 707-713.
19. **Munck BG, Munck LK. 1999.** Effects of pH changes on systems ASC and B in rabbit ileum. *Am J Physiol* 276: G173-G184.
20. **Murer H, Hopfer U, Kinne R. 1976.** Sodium/proton antiport in brush-border-membrane vesicles isolated from rat small intestine and kidney. *Biochem J* 154: 597-604.

21. **Oltmer S, Von Engelhard W. 1994.** Absorption of short-chain fatty acids from the in-situ-erfused caecum and colon of the guinea pig. *Scand J Gastroentero* 29: 1009-1016.
22. **Orloff SL, Bunnett NW, Walsh JH, Debas HT. 1992.** Intestinal acid inhibits gastric acid secretion by neural and hormonal mechanisms in rats. *Am J Physiol* 262: G165-G170.
23. **Paredes MP. 2010.** Relación de medidas biométricas y el desarrollo macroscópico del intestino de la cría de alpaca (*Vicugna pacos*). Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 56 p.
24. **Rechkemmer G. 1991.** The gastrointestinal system, transport of weak electrolytes. In: *Handbook of physiology*. New York: Oxford University Press. p 371-388.
25. **Rechkemmer G, Wahl M, Kuschinsky W, von Engelhardt W. 1986.** pH-microclimate at the luminal surface of the intestinal mucosa of guinea pig and rat. *Pflugers Arch* 407: 33-40.
26. **Rivera C. 1990.** Dinámica de excreción fecal de *Escherichia coli* enteropatógeno y detección de enterotoxina de *Clostridium perfringens* tipo A en alpacas al mes de vida. Tesis de Médico Veterinario. Ica: Univ Nac San Luis Gonzaga de Ica. 52 p.
27. **Sato A, Montoya L. 1989.** Anatomía macroscópica del aparato digestivo de la alpaca (*Lama pacos*). *UNMSM Bol Téc* N° 6. 20 p.
28. **Shimada T, Hoshi T. 1987.** Role of Na⁺/H⁺ antiport in intracellular pH regulation by rabbit enterocytes. *Biochim Biophys Acta* 901: 265-272.
29. **Suzuki H, Yanaka A, Shibahara T, Matsui H, Nakahara A, Tanaka N, Muto H, et al. 2002.** Ammonia-induced apoptosis is accelerated at higher pH in gastric surface mucous cells. *Am J Physiol-Gastr L* 283: G986-G995.
30. **Takuwa N, Shimada T, Matsumoto H, Himukai M, Hoshi T. 1985.** Effect of hydrogen ion-gradient on carrier-mediated transport of glycylglycine across brush border membrane vesicles from rabbit small intestine. *Jpn J Physiol* 35: 629-642.
31. **Tortora GJ, Grabowski SR. 2003.** The digestive system. In: *Principles of anatomy and physiology*. Hoboken, NJ: John Wiley. p 331-340.
32. **Unno N, Menconi MJ, Smith M, Aguirre DE, Fink MP. 1997.** Hyperpermeability of intestinal epithelial monolayers is induced by NO: effect of low extracellular pH. *Am J Physiol* 272: G923-G934.
33. **Vaandrager AB. 2002.** Structure and function of the heat-stable enterotoxin receptor/guanylyl cyclase C. *Mol Cell Biochem* 230: 73-83.
34. **Vallenas A, Cummings JF, Munnell JF. 1971.** A gross study of the compartmentalized stomach of two new-world camelids, the llama and guanaco. *J Morphol* 134: 399-423.
35. **Wenzl E, Sjaastad MD, Weintraub WH, Machen TE. 1989.** Intracellular pH regulation in IEC-6 cells, a cryptlike intestinal cell line. *Am J Physiol* 257: G732-G740.
36. **Woodtli W, Owyang C. 1995.** Duodenal pH governs interdigestive motility in humans. *Am J Physiol* 268: G146-G152.