

51
rej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Ciencias

"DEGENERACION ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LA RETINA POR
DEFICIENCIA EN TAURINA: EFECTO DE LA PRIVACION DE LUZ EN GATOS"

TESIS

que para obtener el titulo de

B I O L O G A

P r e s e n t a .

LAURA DOMINGUEZ CRUZ

Primavera de 1987.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

INTRODUCCION	1
OBJETIVO	6
MATERIALES Y METODO	7
RESULTADOS	11
DISCUSION	13
REFERENCIAS	20

INTRODUCCION

La taurina (ácido 2-aminoetano sulfónico) es un aminoácido azufrado descrito y aislado por primera vez en 1827 de la bilis del toro (Tiedemann y Smelin 1827). Desde entonces y hasta la fecha se ha reportado en los tejidos de diversos phyla, tanto de invertebrados como de vertebrados (Jacobsen y Smith 1968), incluyendo a los protozoarios y a los grupos más elementales de metazoarios por lo que se ha establecido su ubicuidad en el reino animal. Por otro lado, la concentración de la taurina en los vegetales parece ser relativamente baja en comparación con la de los animales (Lahdesmaki 1986).

La taurina no forma parte de la estructura primaria de las proteínas ni de ninguna otra macromolécula, aunque se sabe que forma parte de di o tripéptidos, que se encuentran en el cerebro de ciertas especies como la rata o el ratón (Oja y Kontro 1983). A excepción de su conjugación en el hígado para formar el ácido taurocólico, la taurina no parece estar involucrada en reacciones metabólicas, por lo que fué considerada durante mucho tiempo como un compuesto inerte, producto final del metabolismo de los aminoácidos azufrados.

La taurina está presente en concentraciones altas en tejidos excitables tales como el corazón, el músculo liso y estriado, el sistema nervioso y las glándulas de secreción interna, en los cuales alcanza niveles que fluctúan entre 10 y 40 mM (Jacobsen y Smith 1968). También se encuentra presente en hígado, riñón, plaquetas y linfocitos. En la retina de los vertebrados los niveles de taurina son particularmente altos (Pasantes-Morales y cols. 1972; Oraedu y cols. 1981), localizándose preferentemente en la capa de los fotorreceptores (Orr y cols. 1976).

A pesar de su amplia distribución y a sus concentraciones elevadas, el papel fisiológico de la taurina en los tejidos animales aún se desconoce. Sin embargo, se ha observado que ejerce una serie de efectos farmacológicos y fisiológicos, que incluyen interacción con flujos iónicos (Gruener y Bryant 1975; Pasantes-Morales y cols. 1982), disminución de la excitabilidad nerviosa, efecto anticonvulsivo y antiarrítmico (Welty y Read 1964; Van Gelder 1972; Izumi y col. 1973; Trusby y Nevis 1974), efectos termorreguladores (Sgaragli y Pavan 1972, Hruska y col. 1973), así como acciones referentes a la regulación del metabolismo de la glucosa (Tokunaga y col. 1983; Kulakowsky y Maturro 1984). Desde el punto de vista nutricional se ha enfatizado un papel importante para la taurina por el hecho de que se ha identificado como un nutriente esencial para algunas especies como el gato, y aparentemente puede ser un factor

limitante durante el crecimiento y desarrollo de otras especies incluyendo al hombre (Geggel y cols. 1982, Sturman y cols. 1984).

La síntesis de la taurina en la mayoría de los tejidos animales, se realiza partiendo de precursores endógenos por medio de reacciones enzimáticas asociadas al metabolismo de los aminoácidos azufrados. Se han descrito varias vías para la síntesis de la taurina; sin embargo la ruta principal en la mayoría de los tejidos de vertebrados es la que involucra la oxidación de la cisteína, (Hayes y Sturman 1981) cuyo precursor es el aminoácido azufrado metionina, para formar el ácido cisteín sulfínico, reacción catalizada por la cisteín desoxigenasa (L - cisteín oxígeno reductasa E. C. 1. 13. 11. 20.). El ácido cisteín sulfínico es descarboxilado por la acción de una enzima dependiente del fosfato de piridoxal, la cisteín sulfinato descarboxilasa (L-cisteín sulfinato carboxilasa E.C.4.1.1.29.), dando origen a la hipotaurina (ácido 2 amino etanosulfínico), la cual es oxidada para formar a la taurina (Fig. 1). El mecanismo por el cual se lleva a cabo la oxidación de la hipotaurina es incierto y existen reportes que sugieren que la reacción se lleva a cabo sin la participación de una enzima determinada, en tanto que otros sugieren la existencia de una hipotaurina deshidrogenasa capaz de llevar a cabo la catálisis oxidativa (Sumizu 1962). La enzima

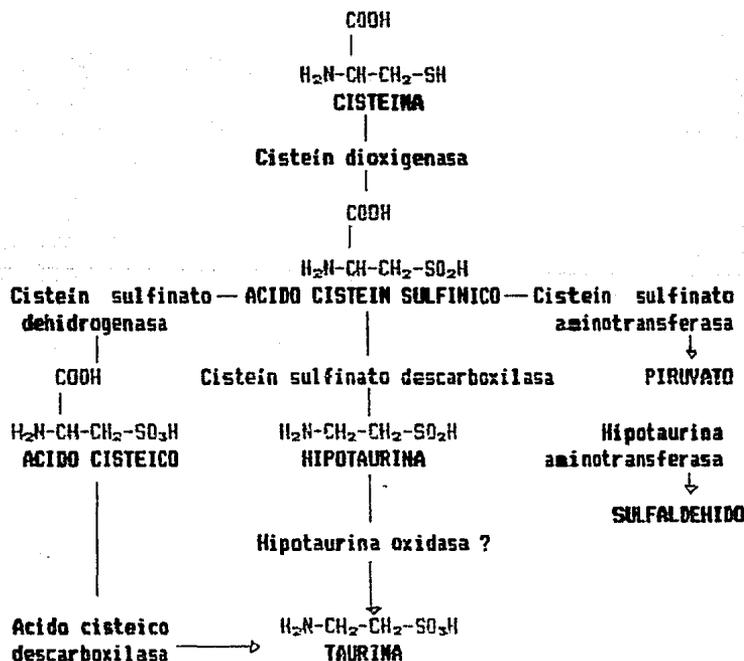


FIG. 1. METABOLISMO DE LA TAURINA A PARTIR DE LA CISTEINA.
(Pasantes-Morales 1986)

limitante en esta ruta metabólica parece ser la descarboxilasa del ácido cisteín sulfínico (CSD). Los intermediarios, así como las enzimas que constituyen esta vía metabólica, han sido determinados en la mayor parte de los tejidos, a excepción del músculo esquelético y el corazón.

La capacidad de biosíntesis de la taurina difiere de una especie a otra, así como en un mismo animal de un órgano a otro y del estadio de desarrollo en que estos se encuentren. El hígado y el riñón están entre los órganos más activos en cuanto a la síntesis de taurina. El cerebro por otra parte tiene una capacidad moderada mientras que el corazón, músculo y linfocitos, tienen una limitada habilidad para la síntesis de este aminoácido (Hayes y Sturman 1981).

Respecto al catabolismo de la taurina, sólo se han considerado como posibles productos de degradación al sulfato inorgánico y al ácido isetiónico (Jacobsen y Smith 1968). La presencia de ^{35}S a partir de ^{35}S -taurina se ha detectado in vivo (Oja y Lahdesmaki 1976) en microorganismos intestinales, los cuales posteriormente lo reutilizan.

LA TAURINA EN LA RETINA.

La taurina es el aminoácido libre más abundante en la retina de todas las especies estudiadas hasta ahora (Cohen y col. 1973; Macaione y cols. 1974). Su concentración está comprendida en el rango de 10 a 50 mM, constituyendo del 40% al 50% del total de la poza de aminoácidos libres en este tejido (Macaione y cols. 1974; Pasantes-Morales y cols. 1972).

Estudios realizados utilizando técnicas de microdissección, han demostrado que del 60% al 70% de la cantidad total de taurina en la retina se encuentra localizada en la capa de los fotorreceptores (Yates y Keen 1974; Kennedy y Voaden 1974; Orr y cols. 1976; Schmidt 1981) (fig 2). Asimismo, experimentos llevados a cabo con compuestos que destruyen selectivamente ciertas capas celulares de la retina han puesto de manifiesto la localización preferente de la taurina en los fotorreceptores (Karlsen y Fonnum 1974; Salceda 1979; Pasantes-Morales y col. 1981).

Las concentraciones de taurina en la retina aumentan durante el desarrollo con un incremento temporal que parece coincidir con la formación de los fotorreceptores, lo cual sugiere que el aumento corresponde a la taurina acumulada en estas células (Pasantes-Morales 1973; Macaione y col. 1974; Sturman 1979).

Los organismos poseen mecanismos muy eficientes de regulación de sus niveles tisulares de taurina, los cuales son rígidamente mantenidos a través de modificaciones en sus tasas de biosíntesis y de excreción (Hope 1957; Sturman 1973). La retina

es, entre todos los tejidos el más resistente a disminuir sus pozas endógenas, ya que posee un sistema de control que mantiene inalterados sus niveles internos, aún bajo condiciones fisiológicas en las que otros tejidos han sido casi o totalmente depletados, lo cual enfatiza la importancia que tiene el aminoácido en la función retiniana.

La retina puede sintetizar una fracción significativa de la taurina que se encuentra en este tejido, sin embargo, la localización de las enzimas involucradas en la biosíntesis del aminoácido parece estar confinada a las capas internas de la retina. Una cantidad considerable de la taurina presente en dicho tejido es obtenida a partir del plasma, por intermedio del epitelio pigmentario mediante un mecanismo de transporte activo. Estudios autorradiográficos han mostrado que la captura de taurina marcada en las retinas aisladas, ocurre primordialmente en la capa de los fotorreceptores en especies como la rata, el pollo, la rana, el ratón y el sapo (Lake y col. 1977, Voaden y col. 1981, Frederick 1982). Por otro lado, se han descrito sistemas de transporte de alta afinidad, dependientes de Na y energía para este aminoácido en retinas de muy diversas especies. Esto permite concentrar la taurina en contra de un gradiente elevado de concentración de alrededor de 400:1 (Schmidt, 1978). La inhibición de estos sistemas se puede realizar por compuestos con una estructura molecular muy similar a la de la taurina como la D-alanina, la hipotaurina y el guanidinoetansulfonato (GES) (Quesada y cols. 1984, Pasantes-Morales y cols. 1983).

A pesar de las elevadas concentraciones de taurina presentes en los fotorreceptores, su participación específica en los fenómenos que en ellos ocurren aún es incierta.

Debido a ciertas características fisiológicas de la taurina, tales como su liberación en respuesta a estímulos despolarizantes, el efecto depresor de la actividad eléctrica sobre la mayoría de las neuronas del sistema nervioso central, incluyendo la retina (Curtis y Watkins 1960) provocada por la aplicación iontoforética de la taurina y la existencia de sistemas tanto de biosíntesis como de transporte, con características de alta afinidad en la retina de algunas especies (Pasantes-Morales y col. 1977; Lombardini 1977; Kaczmarck y Davidson 1972), se ha llegado a plantear que dicho aminoácido podría actuar como neurotransmisor (Mandel 1976). Sin embargo, actualmente se han acumulado una serie de evidencias que, aunque no excluyen definitivamente esta posibilidad, han abierto otras. En particular se ha concentrado la atención en los fotorreceptores, en los que como ya se mencionó se concentra preferentemente la taurina.

Se han realizado estudios acerca del efecto de la iluminación ambiental sobre el contenido de aminoácidos en la retina, los cuales revelan que la taurina se acumula en la retina

de animales mantenidos bajo condiciones de oscuridad, (Pasantes-Morales y cols. 1973). Por otro lado se ha reportado que un estímulo luminoso produce en la retina aislada de pollo, una liberación lenta de taurina (Pasantes-Morales y cols. 1973). Este mismo efecto se ha descrito en la rata y el conejo aunque con algunas diferencias cuantitativas (Schmidt 1978; Neal 1980).

Para estudiar el papel que desempeña la taurina en la función retiniana se han tomado como modelos experimentales los estudios acerca del efecto de la deficiencia en taurina en algunas especies. Los mamíferos en general mantienen constantes sus niveles de taurina, debido a su capacidad biosintética, y a la ingesta que del aminoácido realizan a través de la dieta (Huxtable y Lippincot 1982). Sin embargo el gato es una especie característica que tiene una capacidad muy limitada para sintetizar taurina a partir de metionina o de cisteína como precursores, debido a la baja actividad de la enzima reguladora de esta vía biosintética, la CSD, por lo que dependen exclusivamente de la suplementación exógena de taurina en la dieta para mantener las concentraciones normales del aminoácido en sus tejidos (Sturman y cols. 1978).

En estudios realizados en gatos mantenidos con una dieta deficiente en taurina y con caseína purificada como única fuente de proteínas se ha observado una disminución gradual de la concentración de taurina en la mayoría de los tejidos a los pocos meses de iniciado el tratamiento (Sturman y col 1978). Aunque como ya se mencionó, la retina es uno de los tejidos que más resiste a disminuir los niveles de taurina, éstos llegan finalmente a disminuir hasta en un 70% al término de 3 a 5 meses. El decremento en los niveles de taurina se acompaña de alteraciones tanto morfológicas como funcionales en un estadio temprano del tratamiento. Cuando los niveles de taurina han disminuido aproximadamente en un 20% a un 25%, se puede observar una lesión a través del oftalmoscópio como una pequeña área blanca hiperreflexiva y granular en el centro del tapetum lucidum. Así también la amplitud del electroretinograma (ERG) se encuentra considerablemente reducida y en algunos casos ya no es posible detectarlo, lo cual indica que la anomalía retiniana se extiende más allá de la lesión visible (Hayes y cols. 1975; Berson y cols. 1976; Schmidt y cols. 1976, 1977).

El electroretinograma (ERG) es una respuesta electrofisiológica que se obtiene cuando un electrodo se coloca sobre la córnea de un animal adaptado a la oscuridad y otro de referencia sobre otra parte eléctricamente neutra del cuerpo. El electroretinograma del gato consiste de cuatro componentes: ondas a, b, c y d (Hitochi 1983). La respuesta de todos los vertebrados es muy semejante. La onda negativa a se deriva de los fotorreceptores, esta onda es seguida por una positiva b que probablemente se origine en las células bipolares (o de Müller). La onda positiva c sólo aparece en animales adaptados a la oscuridad y parece corresponder a las células del

epitelio pigmentario, mientras que la onda d se produce sólo en animales de sangre fría adaptados a la luz y es una respuesta a la terminación ("OFF") del estímulo; ésta onda no está todavía bien definida (Hitochi 1983).

Cuando la concentración de taurina disminuye por debajo de un 50% , no solamente se observa el aumento en el tamaño de la lesión del fondo ocular sino también la desintegración estructural de los fotorreceptores, así como la disminución en el contenido total de DNA de la retina (Hayes y col. 1975).

Ultraestructuralmente los cambios en la morfología de los fotorreceptores se manifiestan inicialmente en los segmentos externos, los cuales se ven vesiculados, desorientados y con sus membranas desintegradas, tanto la externa como la de los discos. Esta degeneración se extiende posteriormente a los segmentos internos y la región nuclear de los fotorreceptores. En otras áreas del sistema visual como el tapetum lucidum del gato, se observa la desorganización en el arreglo reticular de los bastones, así como la fragmentación de las membranas que rodean a estas células, produciéndose la compresión y el angostamiento de esta capa en las áreas adyacentes a la zona de degeneración de los fotorreceptores (Wen y col. 1979).

Se ha observado que si el tratamiento es suspendido antes de un tiempo crítico en un estadio en el cual la mayoría de los núcleos y los segmentos internos de los fotorreceptores se encuentran todavía presentes y se suplementa nuevamente la dieta con taurina, se produce la reversión total de los efectos degenerativos y funcionales antes mencionados, lo cual no se observa cuando se substituye a la taurina con otros aminoácidos precursores, como la metionina o la cisteína (Hayes y col. 1975). Estos resultados reafirman el papel vital que desempeña la taurina en el mantenimiento de la estructura de los fotorreceptores.

Los mecanismos por los cuales la deficiencia en taurina causa las degeneraciones descritas se desconocen. No está claro si estas alteraciones en los fotorreceptores estén ligadas a un estado funcional de la retina relacionado a niveles fisiológicos de iluminación, o si estas ocurren aunque la retina no sea expuesta al estímulo luminoso. El presente trabajo trata de investigar la influencia de la iluminación sobre el patrón degenerativo observado en gatos alimentados con una dieta deficiente en taurina para lo cual se examinó la evolución de la degeneración retiniana en animales privados de taurina y mantenidos en la oscuridad total durante todo el tratamiento, en comparación a animales también deficientes en taurina, pero mantenidos en un ciclo normal de luz-oscuridad. La evolución del proceso degenerativo se siguió mediante el registro del electroretinograma y la alteración morfológica de los fotorreceptores se siguió por microscopía electrónica. Se midieron los niveles de taurina en sangre, así como los niveles tisulares en la retina, el cerebro, el cerebelo y el corazón.

MATERIALES Y METODO

ANIMALES Y DIETA

En el presente estudio se trabajó con gatos machos de 15 a 20 semanas de edad, los cuales se repartieron fundamentalmente en dos grupos. Uno de ellos se alimentó con una dieta deficiente en taurina, preparada de acuerdo a las especificaciones de Shmidt y cols. 1974 que en detalle se muestra en el cuadro 1. El otro grupo fué alimentado con una dieta, de la misma fuente, suplementada con taurina. Estos grupos se subdividieron de acuerdo a las condiciones luminicas a que fueron expuestos. Dos de estos subgrupos, uno con alimentación normal y otro con la dieta deficiente, se mantuvo bajo condiciones de iluminación regular, con un ciclo normal de luz y oscuridad de aproximadamente 12 horas cada uno. Los dos subgrupos restantes, uno con la dieta suplementada y el otro con la deficiente, se mantuvo en un cuarto en completa oscuridad provisto con una doble puerta, ventilación y temperatura controladas. Los animales tuvieron libre acceso al alimento y al agua. Las condiciones de completa oscuridad eran sólo interrumpidas por una tenue luz roja (longitud de onda a la cual el gato es menos sensible) encendida 5 minutos diariamente para asear y suministrar el alimento y el agua a los animales. Las condiciones de oscuridad fueron continuamente verificadas por medio de una película fotográfica que se reemplazaba cada semana.

Para tener un control de la ingesta del alimento se registraron los pesos de los animales semanalmente.

Estas colonias de gatos fueron mantenidas en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular.

ELECTRORRETINOGRAMA

El registro de los distintos grupos experimentales se llevó a cabo después de 15, 20 y 25 semanas de tratamiento.

Los animales fueron anestesiados por inyección intravenosa de pentobarbital sódico (33mg/Kg) y fijados en un aparato estereotáxico. El párpado y la membrana nictitante del ojo izquierdo se retiraron y se aplicaron unas gotas de solución de sulfato de atropina al 1% sobre la córnea para provocar la dilatación de la pupila y evitar la repuesta de ésta a la luz. Se colocó sobre la córnea un electrodo circular de 4 mm de diámetro de plata clorurada, aplicando unas gotas de solución

CUADRO 1

INGREDIENTES	GRAMOS POR 100 Gm
CASEINA (libre de vitaminas)*	36.0
DEXTROSA	34.5
SACAROSA	10.0
ACEITE	15.0
MEZCLA DE SALES**	4.0
MEZCLA DE VITAMINAS***	0.2
ACETATO DE ALFA-TOCOFEROL	0.005
PALMITATO DE VITAMINA A (IU)	4000.0
CLORURO DE COLINA	0.3
PROTEINAS (% de calorías)	26.8

*La dieta de caseína (General Biochemicals, Chagrin Falls, Ohio, contiene 86% de proteína de la cual eran 0.5 gr. de metionina por 100 gr. (comparable a una dieta completa), 0.1 gr. de cisteína por 100 gr. (una dieta normal contiene 0.8 gr.), 1.1 gr. de serina por 100 gr. (comparable a la dieta completa).

**La mezcla de sales contiene (en gramos por kilogramo): carbonato de calcio, 300; fosfato de potasio dibásico, 322; fosfato de calcio dibásico, 75; sulfato de magnesio, 102; cloruro de sodio, 147; citrato férrico, 27.50; ioduro de potasio, 0.80; sulfato de magnesio, 5.00; cloruro de zinc, 0.25; sulfato cúprico, 0.30; acetato de cromo, 0.0458; selenite de sodio, 0.0044.

***La mezcla de vitaminas contiene inositol, 60 gr.; niacina, 8 gr.; ácido para-aminobenzoico, 8 gr.; pantotenato de calcio, 4 gr.; riboflavina, 1.6 gr.; piridoxina . HCl, 800 mg.; ácido fosfórico, 200 mg.; tiamina . HCl, 800 mg.; menadion, 200 mg.; cianocobalamina, 10 mg.; biotina, 40 mg.; vitamina D₃ 400 000 IU, preparado con 300 gr. de dextrosa (Shmidt y cols. 1978).

salina para asegurar el contacto, mientras que el electrodo de referencia se fijó en el hocico del gato. Se colocó a 2mm del ojo una fibra óptica de 1 mm de diámetro, con la que se dieron los estímulos luminosos. A continuación el animal se adaptó a la oscuridad durante 20 minutos. El estímulo se obtuvo de un fotoestimulador (1539 A General Radio Stroboslave) produciendo destellos luminosos de 0.8, 1.2 y 30 uscg. de duración en 3 diferentes intensidades, 0.6, 3.5 y 11×10^6 luxes. La frecuencia del disparo del estímulo fue cada 5 minutos. Los potenciales fueron amplificados mediante un preamplificador (122 Tektronix) con una constante de tiempo de a.c. (80-25 Hz) utilizando filtros de 0.8 y 50. Las señales amplificadas se registraron en un osciloscopio (502 Tektronix) utilizando un barrido de 100 mseg/cm y una amplificación de 50 mv/seg. Las respuestas fueron registradas fotográficamente.

NIVELES DE TAURINA.

Las concentraciones de taurina en el plasma de los animales se midieron a los mismos tiempos en los que se efectuaron los registros del ERG. A las 25 semanas se midieron también los niveles de taurina en diferentes tejidos de los animales. Para las medidas del aminoácido en plasma, la sangre fué obtenida por punción cardiaca colectando 3 ml por cada animal. El plasma se separó de las células sanguíneas en un gradiente de Ficoll (Histopaque), y las plaquetas se eliminaron por centrifugación a 1200g, durante 20 min. Para las medidas tisulares, los animales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico (90 mg/Kg) intracardiaco. Se diseccionaron el cerebro, el corazón, el cerebelo y la retina y se congelaron a -70°C para el procesamiento ulterior. La retina del ojo sobrante se reservó para los estudios morfológicos.

Preparación de la fracción de aminoácidos solubles.

Para obtener una fracción de aminoácidos libres las muestras ya pesadas se homogenizaron con 1 ml de ácido perclórico 1.5 N, se centrifugó a 6000 rpm, durante 10 min. y se colectó el sobrenadante. El precipitado se lavó con 1 ml de ácido perclórico y se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. Los sobrenadantes de ambas centrifugaciones se reunieron y se neutralizaron con KOH al 30%, 15% y 7.5%. El precipitado de perclorato de potasio se centrifugó a la misma velocidad y tiempo, y el volumen de todas las muestras se ajustó a 4 ml. Una vez obtenidos los ácidos solubles, se midieron las concentraciones de taurina por cromatografía líquida de alta presión.

Para la cromatografía se utilizó como fase móvil un amortiguador de acetato de potasio 0.1 M, pH 5.5 y etanol. La solución de taurina utilizada como patrón fué de 2 μM en agua. El agente derivatizador se preparó disolviendo 10 mg de o-phthalaldehyde en 500 μl de etanol absoluto. A esta solución se

agregó 500 ul de 2-mercaptoetanol diluyendo a 10 ml con ácido bórico 0.4 M (ajustado a pH 10.4).

Un volumen de 100 ul de la muestra se mezcló con 2 volúmenes del agente derivatizador. Esta solución se agitó y se inyectó antes de 90 seg de su preparación a temperatura ambiente.

MORFOLOGIA.

La observación de las alteraciones estructurales en las células retinianas, especialmente en los fotorreceptores se llevó a cabo mediante microscopía electrónica. Para ello el ojo se enucleó de su órbita, se hizo un corte ecuatorial en el globo ocular para eliminar la córnea, el humor acuoso y el vítreo. El hemisferio que contiene la retina fue inmerso en glutaraldehído al 2.5% preparado en una solución amortiguadora de cacodilato de sodio 0.1 N, pH 7.2 con sacarosa 5 mM durante una hora a 4°C. A continuación la muestra se trató durante una hora con OsO₄ al 2% en la misma solución amortiguadora a 4°C y se lavó tres veces durante 15 minutos. La deshidratación de la muestra se llevó a cabo en alcoholes al 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% y 90%, cada una durante 10 a 15 minutos a 4°C. La deshidratación se terminó con tratamiento en alcohol absoluto durante 10 a 15 minutos a temperatura ambiente. Inmediatamente después la muestra se trató con óxido de propileno haciendo dos cambios de 20 minutos cada uno, se dejó 18 horas y se mantuvo en una mezcla de óxido de propileno y epón (1:1) en un desecador a temperatura ambiente. A continuación, la muestra se mantuvo en contacto con epón puro en un rotador durante 2 horas y finalmente se incluyó en epón fresco durante 18 horas a 60°C. Las muestras así procesadas se prepararon para microscopía electrónica.

RESULTADOS

ELECTORRETINOGRAMA.

La amplitud de las ondas a y b del ERG registrado en los animales alimentados con la dieta deficiente en taurina, decreció con el tiempo de tratamiento, tanto en el grupo mantenido en la oscuridad como el que se expuso a un ciclo normal luz-oscuridad. En la figura 3 se muestran los promedios de los resultados cuantitativos. Los valores de la amplitud de la onda b después de 15 semanas decrecieron hasta tener un 60 12% con respecto a la de los animales control, alimentados con una dieta suplementada con taurina. De la misma forma el grupo de gatos con el ciclo normal luz-oscuridad tuvo un decremento por el cual sólo alcanzó un 65% con respecto al normal. A las 20 semanas de tratamiento el grupo mantenido en oscuridad promedió un 30 10% por debajo del control. Paralelamente el grupo expuesto al ciclo normal luz-oscuridad representó el 37 10%. En la última medida estimada después de 25 semanas de tratamiento el decremento fué crítico alcanzando para el primer grupo un 10 6% y 7 4% para el segundo.

Con respecto a la amplitud de la onda a del ERG en los animales experimentales de ambos grupos se observó un decremento, aunque éste no fué tan claro como el de las amplitudes de la onda b; sin embargo después de las 25 semanas de tratamiento la respuesta positiva desaparece en los dos grupos.

El ERG de los gatos alimentados con una dieta completa y mantenidos en la oscuridad no mostró diferencias con respecto al ERG de gatos en mantenidos con una alimentación y condiciones de iluminación normales.

NIVELES DE TAURINA.

La concentración de taurina en el plasma de los animales deficientes, mostró un decremento progresivo (fig. 4). Así el contenido de taurina en plasma a las 20 semanas de tratamiento en ambos grupos experimentales se redujo a un 15% con respecto a los niveles del aminoácido en animales normales con una dieta suplementada con taurina. Después de las 25 semanas, los niveles de taurina sólo alcanzaban un 5% con respecto al normal.

Las concentraciones tisulares de taurina se determinaron a las 25 semanas, al final del tratamiento correspondiente (fig.4). Los niveles de taurina fueron medidos en la retina, el cerebro, el corazón y el cerebelo de los dos grupos deficientes en taurina expuestos a diferentes

condiciones de iluminación. En todos estos tejidos los niveles de taurina bajaron notablemente, en especial en la retina donde la disminución fué de un 85%; así la concentración de taurina en las retinas de los animales mantenidos en la oscuridad fué de 30.9 10 nmolas/mg y de 23.0 8 nmolas/mg en los gatos expuestos a un ciclo normal luz-oscuridad, datos que contrastan con los niveles de taurina en animales alimentados con una dieta suplementada con taurina, los cuales ascienden a 168.6 nmolas/mg. En el cerebro de los animales sometidos a la oscuridad se encontró una concentración de taurina de 4.2 3 nmolas/mg y de 7.3 3 nmolas/mg en los del ciclo normal, que con respecto a la concentración normal de 15.6 2 nmolas/mg el decremento fué de un 67%. En el cerebelo el primer grupo promedió una concentración de 6.7 2 nmolas/mg y el segundo de 5.6 2 nmolas/mg que si comparamos con el normal de 29.5 nmolas/mg representó el 79.6% de disminución, finalmente en el corazón, los niveles fueron de 8.8 3 nmolas/mg y de 6.3 2 nmolas/mg respectivamente en ambos grupos experimentales que a diferencia del normal de 58.3 nmolas/mg tuvieron una disminución del 86%. Estos datos muestran claramente que la disminución progresiva de la concentración de taurina en los 2 grupos experimentales fué paralela durante todo el tratamiento.

MORFOLOGIA.

Después de 25 semanas de tratamiento con la dieta deficiente en taurina se observaron severas alteraciones en la estructura y organización de los segmentos externos de los fotorreceptores. En la Fig. 5a que corresponde a la retina de un gato con una dieta normal, se observa un arreglo paralelo fino en los discos de los segmentos externos así como la integridad de las membranas externas también se observa una mitocondria intacta. En contraste los fotorreceptores de los gatos deficientes en taurina y condiciones lumínicas normales, pierden este arreglo, los discos aparecen profusamente desorientados, en muchos casos formando círculos (fig. 5 b). La forma cilíndrica de los segmentos externos se alteró notablemente apareciendo generalmente de forma ovalada debido al hinchamiento de los mismos. Asimismo las retinas de los animales deficientes mantenidos en oscuridad mostraron hinchamiento de los segmentos externos, ruptura de la membrana externa y desorientación de los discos (fig. 5 c).

El patrón degenerativo fué el mismo tanto en la retina de los gatos en la oscuridad como en la de los expuestos a un ciclo normal luz-oscuridad.

DISCUSION

A mediados de la década pasada, el grupo de Hayes, Berson y Schmidt, mostraron que en la retina del gato la disminución de los niveles de taurina por debajo de un nivel crítico, producía la degeneración y muerte celular de los fotorreceptores, con la consiguiente pérdida progresiva de la capacidad visual (Hayes y cols. 1975, Berson y cols. 1976, Schmidt y cols. 1977). Posteriormente las consecuencias de una deficiencia en taurina sobre la estructura y función de la retina se mostraron también en especies como la rata, (Lake 1982, Quesada y cols. 1984) las cuales son capaces de sintetizar eficientemente el aminoácido, y bajo condiciones de privación del compuesto en la dieta, son capaces de aumentar su tasa biosintética y de disminuir su excreción en la orina y heces, para así mantener constantes los niveles tisulares de taurina. La disminución en los niveles de taurina en estas especies se logró mediante la utilización de compuestos como el GES y la B-alanina, que producen el bloqueo de los sistemas de transporte de taurina de diversos tejidos tanto in vivo como in vitro (Quesada y col. 1984, Huxtable 1979, Shaffer y Kesis 1981). La administración del GES en el agua de beber produce en las ratas una rápida disminución de los niveles de taurina en la retina, la cual es de alrededor de un 40% del nivel basal a los 9 días y llegan a disminuir hasta en un 60% después de ser administrado el compuesto sistemáticamente durante 3 semanas. Bajo estas mismas condiciones no se observan alteraciones en los niveles de otros aminoácidos. La disminución de taurina se ve acompañada por el decremento progresivo de la amplitud de las ondas a y b del ERG (Quesada y cols. 1984, Lake 1982), así como por la degeneración de los fotorreceptores Pasantes-Morales 1983), siendo idéntico el patrón degenerativo observado al que se presenta en los gatos alimentados con una dieta deficiente en taurina.

El efecto inhibitor del GES, aparentemente se manifiesta sobre el componente de alta afinidad del sistema de transporte de taurina. La particular sensibilidad de los fotorreceptores a la acción del análogo podría deberse a que dicho sistema se localiza preferentemente en este estrato celular en comparación con las capas internas de la retina, en los que probablemente existe biosíntesis.

Estos efectos también se han identificado en otras especies como en primates y el hombre. Sturman demostró que después de alimentar monos con una dieta deficiente en taurina a base de caseína, se ocasionaba un daño importante en los segmentos externos (Sturman y cols. 1984).

En humanos un síndrome conocido como "blind-loop" (Sheik y cols. 1981) es capaz de producir una disminución en los niveles de taurina. Al actuar sobre la peristalsis intestinal facilita un incremento bacteriano excesivo lo cual altera la absorción normal de ácido fólico y vitamina B12, esto conlleva a que el metabolismo de taurina se altere. Estos pacientes presentan alteraciones en la función de los conos y defectos en el epitelio pigmentario.

En estudios con humanos Geggel (1982) encontró que al alimentar niños con una dieta parenteral deficiente en taurina, la concentración de este aminoácido en plasma disminuía. Al examinar a estos pacientes se encontraron alteraciones en la función celular, que se revertían con la administración de taurina (Geggel 1982)

Esta serie de trabajos dieron un impulso definitivo al interés por describir tanto la naturaleza del papel fisiológico, como el mecanismo por el cual actúa el aminoácido, no solamente en la retina sino también en los demás tejidos y órganos en donde se localiza.

Los resultados del presente trabajo mostraron que la degeneración producida por la disminución en los niveles de taurina en la retina progresó en la oscuridad paralelamente y con las mismas características que la de los gatos expuestos a un ciclo normal luz-oscuridad. Por otra parte el decremento de los niveles de taurina observado en otros órganos como consecuencia de la deficiencia en este aminoácido, fué similar tanto en los gatos mantenidos en la oscuridad como los de luz. Estas observaciones sugieren que los mecanismos a través de los cuales la taurina mantiene la estructura del fotorreceptor son independientes de los eventos fisiológicos que ocurren durante la estimulación luminosa y ocurren también en los procesos que tienen lugar en la oscuridad.

Se observó que la deficiencia de taurina en la dieta, difiere cuantitativamente entre los tejidos que se ven afectados; así en la retina, el corazón y el cerebelo, hubo un decremento importante de entre el 80-90%, mientras que en la corteza cerebral el decremento solo fué de entre 33-66%. Asimismo el contenido de taurina en plasma, en los gatos alimentados con la dieta libre del aminoácido, mostró una disminución del 85-90%. Esta diferencia en las concentraciones tisulares del aminoácido coincide con las reportadas para las ratas tratadas con GES (Huxtable y cols. 1979, Lake 1981).

Hasta ahora la retina parece ser el único tejido afectado por la deficiencia de taurina en el adulto, tanto morfológica como funcionalmente. Esta susceptibilidad podría estar relacionada con una disminución mayor en los niveles de taurina con respecto a otros tejidos. Sin embargo en gatos recién nacidos de madres deficientes en taurina, en las cuales la

En humanos un síndrome conocido como "blind-loop" (Sheik y cols. 1981) es capaz de producir una disminución en los niveles de taurina. Al actuar sobre la peristalsis intestinal facilita un incremento bacteriano excesivo lo cual altera la absorción normal de ácido fólico y vitamina B12, esto conlleva a que el metabolismo de taurina se altere. Estos pacientes presentan alteraciones en la función de los conos y defectos en el epitelio pigmentario.

En estudios con humanos Geggel (1982) encontró que al alimentar niños con una dieta parenteral deficiente en taurina, la concentración de este aminoácido en plasma disminuía. Al examinar a estos pacientes se encontraron alteraciones en la función celular, que se revertían con la administración de taurina (Geggel 1982)

Esta serie de trabajos dieron un impulso definitivo al interés por describir tanto la naturaleza del papel fisiológico, como el mecanismo por el cual actúa el aminoácido, no solamente en la retina sino también en los demás tejidos y órganos en donde se localiza.

Los resultados del presente trabajo mostraron que la degeneración producida por la disminución en los niveles de taurina en la retina progresó en la oscuridad paralelamente y con las mismas características que la de los gatos expuestos a un ciclo normal luz-oscuridad. Por otra parte el decremento de los niveles de taurina observado en otros órganos como consecuencia de la deficiencia en este aminoácido, fué similar tanto en los gatos mantenidos en la oscuridad como los de luz. Estas observaciones sugieren que los mecanismos a través de los cuales la taurina mantiene la estructura del fotorreceptor son independientes de los eventos fisiológicos que ocurren durante la estimulación luminosa y ocurren también en los procesos que tienen lugar en la oscuridad.

Se observó que la deficiencia de taurina en la dieta, difiere cuantitativamente entre los tejidos que se ven afectados; así en la retina, el corazón y el cerebelo, hubo un decremento importante de entre el 80-90%, mientras que en la corteza cerebral el decremento solo fué de entre 33-44%. Asimismo el contenido de taurina en plasma, en los gatos alimentados con la dieta libre del aminoácido, mostró una disminución del 85-90%. Esta diferencia en las concentraciones tisulares del aminoácido coincide con las reportadas para las ratas tratadas con GES (Huxtable y cols. 1979, Lake 1981).

Hasta ahora la retina parece ser el único tejido afectado por la deficiencia de taurina en el adulto, tanto morfológica como funcionalmente. Esta susceptibilidad podría estar relacionada con una disminución mayor en los niveles de taurina con respecto a otros tejidos. Sin embargo en gatos recién nacidos de madres deficientes en taurina, en las cuales la

concentración de este aminoácido en la leche es de solo el 10% de la normal, presentan una serie de alteraciones neurológicas como un desarrollo anormal de las patas traseras, abducción y parálisis al caminar y una quifosis torácica visible solo por rayos X. Estudios histológicos de cerebelos de estos gatitos deficientes, pre- y post-natales, revelan que la capa externa de las células granulares no migra, lo que sugiere un retardo en la maduración de dicho órgano (Sturman y cols. 1978).

Las concentraciones elevadas de taurina presentes en la retina, su acumulación preferencial en los fotorreceptores, así como los rígidos mecanismos de regulación de sus niveles endógenos, sugieren las necesidades de este órgano de disponer de una poza estable del aminoácido para ejercer su función.

El caso del hombre es semejante al del gato en el sentido de que ambas especies requieren de un aporte exógeno de taurina debido a su deficiencia metabólica natural para sintetizarla; sin embargo las alteraciones visuales en el humano se han detectado después de tratamientos mucho más prolongados con dietas carentes de taurina (Geggel 1982). Esto puede deberse a que el gato requiere la taurina para la formación del ácido taurocólico, lo cual provoca una disminución progresiva de sus niveles endógenos si no recibe nuevos aportes externos del aminoácido, mientras que el hombre posee dos vías alternativas para la formación de sus ácidos biliares: la que produce ácido taurocólico a partir de taurina y aquella que sintetiza ácido glicocólico a partir de glicina (Sjövall 1960). Aparentemente en el hombre, una deficiencia en el abastecimiento de taurina provoca la inhibición de la síntesis de ácido taurocólico y la utilización preferencial de la vía alternativa de la glicina. Este mecanismo le confiere un efectivo sistema de ahorro de taurina en circunstancias en las que el aporte exógeno del aminoácido es deficiente, ya que hasta donde se conoce, la formación del ácido biliar es la única transformación catabólica de la taurina en los organismos.

La similitud entre los resultados obtenidos en el gato, la rata y el hombre, sugieren que el mantenimiento estable de una poza de taurina en la retina, asociada con la integridad estructural de los fotorreceptores, puede ser una condición común a otras especies.

Los resultados obtenidos al igual que en otros trabajos, muestran que después de la retina es el corazón el que muestra una notable disminución en los niveles de taurina; estas alteraciones abren la posibilidad de que este órgano, al igual que la retina, puede presentar alteraciones patológicas al ser modificados los niveles de taurina, los cuales constituyen del 40% al 50% de su contenido total de aminoácidos libres.

Entre los posibles mecanismos de protección de la taurina en los fotorreceptores y otras células de la retina se ha considerado un efecto como estabilizador de membranas.

Con base en los efectos descritos en ese entonces para la taurina, Huxtable utilizó el adjetivo de estabilizador de membranas (Huxtable 1976) refiriéndose al posible papel ejercido por el aminoácido en los tejidos animales, y aún cuando éste pudiera ser un concepto vago sobre la función del aminoácido, describe claramente la acción que ejerce la taurina sobre la estructura de los fotorreceptores.

La capacidad de la taurina para estabilizar la estructura de los fotorreceptores se ha demostrado también en sistemas in vitro. La exposición a la iluminación continua de una preparación de segmentos externos aislados de los fotorreceptores de rana, produce profundas alteraciones en su estructura, caracterizadas por la desorganización membranal general, así como por el aumento en el volumen celular, desestabilizando la estructura de los segmentos externos. Este efecto degenerativo ocasionado por la luz se contrarresta totalmente cuando se encuentra presente la taurina en el medio de incubación, siendo incluso mayor el número de segmentos externos intactos que los observados en preparaciones sometidas a oscuridad continua (Pasantes-Morales y cols. 1981).

Este efecto protector del aminoácido también se observó sobre la degeneración membranal inducida por el sulfato ferroso, un agente peroxidante que produce daño extenso a las membranas biológicas por su capacidad de promover la peroxidación de los lípidos de las membranas; sin embargo este efecto protector únicamente se presenta cuando además de la taurina se adiciona zinc al medio (Pasantes-Morales 1983). Se ha reportado que la deficiencia de este metal de transición produce entre otros efectos la degeneración retiniana (Leure-Dupree 1981,1982), que muestra características similares a la degradación estructural observada en los animales deficientes en taurina.

La acción protectora conjunta de la taurina y el zinc se observó también en una preparación de linfoblastoides humanos expuestos por tiempos cortos en presencia del ácido retinoico o del retinol, dos agentes citotóxicos que producen la muerte celular (Pasantes-Morales y col.1984). La viabilidad, estructura y volumen celular se mantuvieron en estas células cuando el medio de incubación contenía taurina y zinc.

Cuando los segmentos externos se incuban en un medio carente de calcio y en presencia de EGTA, un quelante de metales divalentes, para eliminar cualquier remanente libre de este ión se incrementa el número de segmentos externos alterados. La presencia de taurina en el medio de incubación protege la estructura de los fotorreceptores.

La taurina es cardiotónica bajo condiciones en las que existen alteraciones en la estructura del sarcolema, tales condiciones incluyen el efecto de la paradoja del calcio. Si se elimina el calcio del líquido que baña un tejido por varios minutos, se producen alteraciones ultraestructurales y cambios importantes en la permeabilidad membranar; si después de esta privación de calcio se administra una concentración fisiológica de este ión en el medio, ocurre un daño celular mayor en el tejido, este efecto Zimmermann lo llamó "paradoja del calcio" (Sebring y Huxtable (1982).

Se ha reportado que el CCl_4 causa daño hepatocelular en la barrera permeable a los iones de Ca, lo que causa necrosis en los hepatocitos. Este aumento en la concentración de Ca intracelular ocasionado por el CCl_4 se suprime significativamente con un tratamiento con taurina (Nakashima y cols. 1982). Esto sugiere que la taurina puede tener una acción protectora sobre el daño hepatocelular inducido por el CCl_4 al reducir la concentración intracelular de iones de Ca libres (Nakashima y cols. 1983).

Los mecanismos mediante los cuales se ocasiona el daño morfológico y estructural en la retina de animales deficientes en taurina son inciertos. Las evidencias mostradas y discutidas en el presente trabajo sugieren que la taurina juega un papel importante para mantener la integridad de las membranas; sin embargo aún se desconoce si este efecto protector es directo o indirecto. Existen pruebas que apoyan que el efecto protector del aminoácido es a través de su acción sobre la permeabilidad de la membrana y el transporte de iones. Así al analizar algunos de los fenómenos involucrados en el efecto desestabilizante de la luz sobre los segmentos, se estableció que para observar dicho efecto era necesaria la presencia de cloruro de sodio y bicarbonato en el medio de incubación (Pasantes-Morales 1981), de lo cual podría inferirse que la luz modifica la permeabilidad de alguna de estas especies iónicas, produciendo así el daño estructural y que la acción protectora de la taurina estaría localizada a nivel de estos procesos membranales.

En los segmentos externos de los fotorreceptores continuamente ocurren movimientos iónicos en diferentes compartimientos celulares, entre los cuales las translocaciones de sodio, potasio y calcio están estrechamente vinculadas con el estado funcional de la célula (Korenbrote y cols. 1972). por otra parte se ha descrito que la taurina modifica los flujos de calcio en el sarcolema, sinaptosomas y fracciones subcelulares de la retina (Pasantes-Morales y cols. 1979, 1980). La taurina también induce cambios en los potenciales de membrana al modificar la permeabilidad del potasio (Gruener y cols. 1975).

Con base en estos antecedentes es posible que la acción de la taurina sobre los flujos de calcio en la retina, en particular a nivel de los fotorreceptores, esté vinculada con su efecto protector de la estructura celular.

REFERENCIAS

- AWAPARA, J. (1976). The metabolism of taurine in the animal. En: Taurine (R.J. Huxtable y A. Barbeau. eds.) Raven Press, New York, pp.1-19.
- BERSON, E.L., HAYES, K.C., RABIN, A.R., SHMIDT, S.Y. y WATSON, G. (1976) Retinal degeneration in cats fed casein. Supplementation with methionine, cysteine or taurine. Invest. Ophthalmol. 15:52-58.
- COHEN, A.I., McDANIEL, M. y ORR, H.T. (1973) Absolute levels of some free aminoacids in normal and biologically fractionated retinas. Invest. Ophthalmol. 12:686-693.
- CURTIS, D.R. y WATKINS, J.C. (1960). The excitation and depression of spinal neurons by structurally related amino acids. J. Neurochem. 6:117-141.
- GEGGEL, H.S., AMENT, M.E., HECKENLIVELY, J.R. y KOPPLE, J.D. (1982). Evidence that taurine es an essential amino acid in children recieving total parenteral nutrition. Clin. Res. 30:486A
- GRUENER, R. y BRYANT, H.J. (1975). Excitability modulation by taurine: actions on axon membrane permeabilities. J. Pharmacol. Exp. Ther. 194:514-521.
- HAYES, K.C., CAREY, R.E. y SCHMIDT, S.Y. (1975). Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat. Science 188:949-951.
- HAYES, K.C. Y STURMAN, J.A. (1981). Taurine in metabolism. Ann Rev.Nutr. 1:401-425.
- HOPE, D.B. (1957). The persistence of taurine in the brakes of pyridoxine deficient rats. J. Neurochem. 1:364-369.
- HRUSKA, R.E., THUT, P.D., HUXTABLE, R. y BRESSLER, R. (1973). Taurine: hypothermic effect in mice. Pharmacologist. 15:301-305.
- HUXTABLE, R.J. (1976) Metabolism and function of taurine in the heart. En: Taurine (R.J. Huxtable A. Barbeau, eds) Raven Press, New York, pp. 99-119).
- HUXTABLE, R.J., LAIRD, H.E. Y LIPPINCOTT, S.E. (1979). The transport of taurine in the heart and the rapid depletion of tissue taurine content by guanidinoethyl sulfonate. J.Pharmacol. Exp. Ther. 211:465-471.
- HUXTABLE, R.J. y LIPPINCOTT, S.E. (1982). Sources and turnover rates of taurine in newborn, weanling and mature rats. Adv. Exp.

Med. Biol. 139:29-46.

IZUMI, K., DONALDSON, J., MINNICH, J.L. y BARBEAU, A. (1973). Quabain induced seizures in rats: suppressive effects of taurine and amino butyric acid. Can. J. Physiol. Pharmacol. 51:885-889.

JACOBSEN, J.G. y SMITH, L.H. (1968). Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. Physiol. Rev. 48:424-511.

KACZMARCK, L.K. y DAVIDSON, A.N. (1972). Uptake and release of taurine from rat brain slices. J. Neurochem. 19:2355-2362.

KARLSEN, R.L. y FONNUM, F. (1976). The toxic effect of sodium glutamate on rat retina, changes in putative neurotransmitters and their corresponding enzymes. J. Neurochem. 27:1437-1442.

KENNEDY, A.J. y VOADEN, M.J. (1974). Distribution of free amino acids in the frog retina. Biochem. Soc. Trans. 2:1256-1258.

KULAKOWSKY, E.C. y MATURO, J. (1984). Hypoglycemic properties of taurine: not mediated by enhanced insulin release. Biochem. Pharmacol. 33:2835-2838.

LAKE, N. (1981). Depletion of retinal taurine by treatment with guanidinoethylsulfonate. Life Sci. 29:445-448.

LOMBARDINI, J. B. (1977). High affinity uptake systems for taurine in tissue slices and synaptosomal fractions prepared from various regions of the rat central nervous system. Correction of transport data by different experimental procedures. J. Neurochem. 29:305-312.

MACAIONE, S., RUGGERI, P., DeLUCA, F. y TUCCI, G. (1974). Free amino acids in developing rat retina. J. Neurochem. 22:887-891.

MANDEL, P., PASANTES-MORALES, H. y URBAN, P.F. (1976). Taurine, a putative transmitter in the retina. En: transmitters in the visual process, IV. (Bonting, S.L. ed.), Pergamon Press, LTD. Oxford, New York, pp 89-105.

OJA, S.S. y KONTRÖ, P. (1983). Taurine. En: Handbook of Neurochemistry Vol. 3 (A. Lajtha, ed.), Plenum Press, New York, pp 501-533.

ORR, H.T., COHEN, A.L. y LOWRY, D.H. (1976). The distribution of taurine in the vertebrate retina. J. Neurochem. 26:609-611.

PACHECO, P. Y MUZQUIZ, L. (1982). Two retinal processes displayed in the cat electroretinogram. Vis. Res. 22:1525-1532.

PASANTES-MORALES, H., ARZATE, M.E. y CRUZ, C. (1982). The role of taurine in nervous tissue: its effects on ionic fluxes. Adv. Exp. Med. Biol. 139:273-292.

PASANTES-MORALES, H., KLETHI, J., LEDIG, M. y MANDEL, P. (1972).

Free amino acids in chicken and rat retina. Brain Res. 41:494-497.

PASANTES-MORALES, H., KLETHI, J., LEDIG, M. y MANDEL, P. (1973). Influence of light and dark on the free amino acid pattern of the developing chick retina. Brain Res. 5:57-65.

PASANTES-MORALES, H., LORINETTE, C. y CHATAGNER, F. (1977). Regional and subcellular distribution of taurine synthesizing enzymes in the rat central nervous system. Neurochem. Res. 2:671-680.

PASANTES-MORALES, H., QUESADA, O. y CARABEZ, A. (1981). Light stimulated release of taurine from retinas of kainic acid treated chick. J. Neurochem. 36:1583-1586.

PASANTES-MORALES, H., QUESADA, O., CARABEZ, A. Y HUXTABLE, R.J. (1983). Effects of the taurine transport antagonist, Guanidinoethane Sulfonate, and B-alanine on the morphology of Rat Retina. J. Neurosci. Res. 9:135-143.

PASANTES-MORALES, H., URBAN, P.F., KLETHI, J. y MANDEL, P. (1973). Light stimulated release of 35 S-taurine from chicken retina. Brain Res. 51:375-378.

PASANTES-MORALES, H., WRIGHT, C.E. Y GAULL, G.E. (1984). Protective effect of taurine, zinc and tocopherol on retinol-induced damage in human lymphoblastoid cells. J. Nutr. 14:64-69.

QUESADA, O., HUXTABLE, R.J. Y PASANTES-MORALES, H. (1984). Effect of Guanidinoethane Sulfonate on Taurine Uptake by Rat Retina. J. Neurosci. Res. 11:177-186.

SALCEDA, R., PACHECO, P., CARABEZ, A. y PASANTES-MORALES, H. (1977). Taurine levels uptake and synthesizing enzyme activities in degenerated rat retinas. Exp. Eye Res. 28:137-146.

SCHMIDT, S.Y. (1978). Taurine fluxes in insolated rat and cat retinas: effects of illumination. Exp. Eye Res. 26:529-534.

SCHMIDT, S.Y. (1981). Taurine in retinas of taurine-deficient cats and RCS rats. En: the effects of taurine on excitable tissues

SCHMIDT, S.Y., BERSON, E.L. y HAYES, K.C. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein. I. Taurine deficiency. Invest. Ophthalmol. 15:47-52.

SCHMIDT, S.Y., BERSON, E.L., WATSON, G. y HUANG, C. (1977). Retinal degeneration in cats fed casein. III. Taurine deficiency and ERG amplitudes. Invest. Ophthalmol. 16:673-678.

SGARAGLI, G.P. y PAVAN, F. (1972). Effects of amino acids compounds injected into cerebrospinal fluid spaces on colonic temperature, arterial blood pressure and behaviour of the rat.

Neuropharmacology 11:45-46.

SHAFFER, J.F. Y KOCSIS, J.J. (1981). Taurine mobilizing affects of beta-alanine and other inhibitors of taurine transport. Life Sci. 28:2727-2736.

SHEIK, TOSKES P. DAWSON (1981) Taurine deficiency and retinal defects associated with small intestine bacterial overgrowth. Gastroenterology. 80:1365.

SHICHI, H. (1983). Biochemistry of vision. Academic Press. London.

SJOVALL, J. (1960). Bile acids in man under normal and pathological conditions. Clin.Chim. Acta. 5:33-41.

STURMAN, J.A. (1973). Taurine pool sizes in the rat: effects of vitamin B 6 deficiency and high taurine diet. J. Nutr. 103:1566-1580.

STURMAN, J.A. (1979). Taurine in the developing rabbit visual system: changes in concentration and axonal transport including a comparison with axonally transported proteins. J. Neurobiol. 10:221-237.

STURMAN, J.A., RASSIN, D.K., HAYES, K.C. Y GAULL, G.E. (1978). Taurine deficiency in the kitten: exchange and turnover of 35 S-taurine in brain, retina and other tissues. J. Nutr. 108:1462-1476.

STURMAN, J.A., WEN, G.Y., WISNIEWSKI, H.M. Y NEURINGER, M.D. (1984) Retinal degeneration in primates raised on a synthetic human infant formula. Int.J. Devel. Neurosci. 2:121.

STURMAN, J.A., MORETZ, R.C., FRENCH, J.H. Y WISNIEWSKI, H.M. (1985). Taurine deficiency in the developing cat: persistence of the cerebellar external granule cell layer. J. Neurosci. Res. 13:405-416.

SUMIZU, K. (1962). Oxidation of hypotaurine in rat liver. Biochem. Biophys. Acta 63:210-212.

TIEDEMANN, F. Y GMELIN, L. (1827). Einige neue Bestandtheile der Galle de Ochsen. Ann. Physik. Chem. 9:326-337.

TOKUNAGA, H., YONEDA, Y. Y KURIYAMA, K. (1983). Streptozotocin-induced elevation of pancreatic taurine content and suppressive effect of taurine on insulin secretion. Eur. J. Pharmacol. 87:237-243.

TRUSBY, M.H. Y NEVIS, A.H. (1974). Anticonvulsant activity of taurine in electrically and osmotically induced seizures in mice and rats. Fed. Proc. 33:1494-1498.

VAN GELDER, N.N. (1972). Antagonism by taurine of cobdt induced

epilepsy in cat and mouse. Brain Res. 47:157-168.

WELTY, J.D. y READ, W.U. (1964). Studies on some cardiac effects of taurine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 144:110-115.

NEN, G.Y., STURMAN, J.A., WISNIEWSKY, H.M., LIDSKY, A.A., CORNWELL, A.C. y HAYES, K.C. (1979). Tapetum desorganization in taurine-depleted cats. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 18:1200-1206.

YAMAMOTO, K., YOSHITANI, Y., FUJINARA, H. y MATSUURA, K. (1970). Study on free amino acids in the retina. Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 74:1561-1563.

YATES, R.A. y KEEN, P. (1974). The distribution of the amino acids in subdivisions of rats and frog retinas obtained by a new technique. Brain Res. 107:117-122.