

~~0343~~
1
1 ej.
00343
4.

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



**ESTUDIO SOBRE LA LITOGENICIDAD DE LA VITAMINA A
Y CAROTENOIDES EN EL JAMSTER DORADO**

(Mesocricetus auratus)

TESIS que presenta
RENE CARDENAS VAZQUEZ
Para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
(Biología Animal)

EJEMPLAR UNICO

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

A mis padres

RICARDO y CARMEN

A PALOMA

A mis hermanos

Contenido:

INTRODUCCION

Primera Parte

PAG.

REVISION DE LA LITERATURA SOBRE VITAMINA A Y CAROTENOIDES

- | | |
|-----------------|----|
| A) Vitamina A | 3 |
| B) Carotenoides | 16 |

Segunda Parte

SECCION EXPERIMENTAL

- | | |
|-----------------------|----|
| A) Objetivos | 26 |
| B) Material y métodos | 26 |
| C) Resultados | 30 |
| D) Discusión | 38 |
| E) Conclusiones | 43 |

Tercera Parte

RESUMEN GENERAL Y BIBLIOGRAFIA

- | | |
|--------------------|----|
| A) Resumen general | 44 |
| B) Bibliografia | 48 |

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCION

El presente estudio es una continuación de las investigaciones que hemos estado realizando desde hace varios años en el Laboratorio de Biología Animal Experimental de esta Facultad, en relación con la definida acción colelitogénica pigmentaria de la Vitamina A en el jámster dorado (83). El primer estudio sobre esta materia fue el trabajo de tesis que presenté para obtener el título de Biólogo (1). En el presente trabajo excluimos la revisión de la colelitiasis en general y en animales de laboratorio, la cual fue incluida en la tesis de licenciatura; aquí realizamos únicamente una revisión actualizada de los conocimientos sobre la vitamina A y los carotenoides, para así estar familiarizados con lo que hasta hoy se sabe sobre la biología de ellos.

La información científica que reporta el presente estudio es la relacionada con la confirmación y ampliación de las investigaciones sobre la acción colelitogénica pigmentaria de la vitamina A, lo cual tiene una importancia definida no sólo en el estudio de la patología de los cálculos biliares, sino que establece también un modelo experimental muy adecuado para que, mediante estudios posteriores, se llegue a un conocimiento más profundo de las funciones y del metabolismo de la Vitamina A misma.

Agradezco de especial manera, al Dr Humberto Granados su acertada y valiosa dirección en la realización de este trabajo. También deseo expresar mi reconocimiento a la estudiante de Biología Srita. Alma Rosa Castillo López por su inapreciable ayuda en la parte técnica y en

la presentación de este estudio, y al M.V.Z. Mario Soriano Bautista por su gentil y eficiente ayuda.

Asimismo, deseo agradecer a Productos Roche, S.A. de C.V., por la donación de la vitamina A y a Productos de Leche, S.A., México, D. F., por la donación de la manteguilla usadas en el presente estudio.

PRIMERA PARTE

REVISIÓN DE LA LITERATURA SOBRE VITAMINA A Y CAROTENOIDES

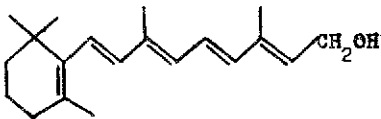
A) Vitamina A:

Los aspectos fundamentales sobre la historia, química, fisiología y patología de la vitamina A fueron revisados, incluyendo la literatura hasta 1977, en mi Tesis de Licenciatura en Biología (1). La presente revisión aumenta y actualiza hasta el presente año la revisión bibliográfica sobre este factor.

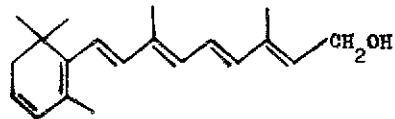
Historia: la vitamina A se conoce desde principios de este siglo, cuando en 1913 Osborne y Mendel por un lado, y McCollum y Davis por otro, reportaron que ciertos aceites y grasas estimulaban el crecimiento en ratas mientras que otros de composición similar no lo hacían; ésta es la primera evidencia de la existencia de la vitamina A (2,3). En 1917 McCollum y Simmons demostraron que la xeroftalmía se debía específicamente a la pérdida de una vitamina liposoluble. En 1920 Rosenheim y Drummond demostraron que los carotenos de las plantas tienen una acción biológica similar a la de la sustancia A liposoluble (3). Diez años más tarde Moore (1930) demostró que los carotenos están relacionados estructuralmente a la vitamina A y son convertidos in vivo en vitamina A. A mediados de los 20's se relacionaron la adaptación a la obscuridad y la vitamina A; pero no fue sino hasta 1933 cuando Wald descu-

bió que la púrpura visual, responsable de la visión nocturna, contenía vitamina A en adición a una proteína. En 1931 la vitamina A se aisló en grandes cantidades de aceite de hígado de pescado, pero no fue sino hasta finales de los 40's cuando salió al mercado vitamina A sintética (2).

Química: esta vitamina está representada por varios compuestos cercanamente relacionados, denominados vitámeros (4). De estos, las formas químicas más importantes son la A_1 y la A_2 , debido a que son formas que se encuentran en la naturaleza y son las que tienen mayor capacidad para promover el crecimiento en animales deficientes en vitamina A (5); estas formas son también conocidas como retinol₁ y retinol₂ (3-dehidroretinol o dehidroretinol), los cuales son alcoholes que tienen anillos alicíclicos de 6 átomos de carbono con cadenas laterales constituidas por 2 unidades de isopreno; difieren sólo en que A_2 posee un doble enlace más que A_1 en los átomos 3 y 4 del anillo (2, 3, 5, 6). Las vitaminas A_1 y A_2 tienen todos sus dobles enlaces con la configuración trans. Estos alcoholes son incoloros, insolubles en solventes no polares, inestables a la luz y resistentes al calor; la forma pura se oxida fácilmente. Se almacenan en el hígado como ésteres de ácidos grasos, principalmente ácido palmítico (2). La forma A_1 ocurre más en mamíferos y peces de agua salada, mientras que la forma A_2 se presenta más en peces de agua dulce (4).



Retinol o vitamina A_1



3-dehidroretinol o vitamina A_2

El alcohol es convertido en aldehído constituyendo el retinal, que es la forma en la cual la vitamina actúa en la adaptación a la obscuridad (7). La forma ácida de la vitamina A se denomina ácido Retinoico

y se forma a partir del retinol vía retinal; se ha visto que este ácido promueve el crecimiento pero no juega ningún papel en la visión ni en la reproducción y que en los animales constituye una porción muy pequeña de la vitamina A del suero (8).

Fisiología: la función metabólica de la vitamina A explicada en términos bioquímicos es todavía desconocida. Hasta hoy, se ha demostrado que la vitamina A juega un papel muy importante en los siguientes procesos fisiológicos normales: 1. Es indispensable en el proceso de la visión; ésta es la única función fisiológica de la vitamina A conocida a nivel bioquímico: participa en la formación de la púrpura visual o rodopsina, la cual es el pigmento visual más extensamente estudiado y empleado para explicar el proceso de la visión; sin embargo, por los resultados de varios investigadores podría concluirse que todos los pigmentos visuales de los vertebrados operan de manera similar, esto es, por medio de un ciclo de isomerización cis-trans que fué establecido por Wald en 1968 (7). La rodopsina es el receptor para la visión con poca intensidad luminosa o sea para la visión nocturna. Al llegar la luz a la retina, la rodopsina se desintegra en opsina y all-trans retinal en la parte externa de los bastoncillos; el all-trans retinal sufre reducción reversible para dar el all-trans retinol, el cual se esterifica con ácidos grasos y se isomeriza formando el ester de all-cis retinilo. Para entrar al ciclo visual estos ésteres, primero se desesterifican para producir el all-cis retinol, el cual por oxidación forma el all-cis retinal; al combinarse la opsina con el all-cis retinal se regenera la púrpura visual y de este modo la sensibilidad a la luz se renueva constantemente; 2. En la diferenciación y el crecimiento de los tejidos epiteliales; 3. En la fisiología de las gónadas y en el mantenimiento del embarazo (4); 4. En el crecimiento de los huesos (2).

5. Recientemente ha sido establecida la intervención de la vitamina A en la formación de los glucolípidos retinol-fosfato-manosa y retinol fosfato-galactosa. Estos derivados de retinol-fosfato son sintetizados tanto en cultivo de tejidos como in vivo. El retinol-fosfato-manosa ha sido estudiado por su habilidad para donar manosa directamente a las glucoproteínas de la membrana, por lo que los derivados glucosilados de retinol fosfato son considerados importantes intermediarios en la síntesis de ciertos tipos de glucoproteínas (9). El ácido retinoico también tiene capacidad para formar compuestos muy similares en sus propiedades al retinol-fosfato y sus derivados glucosilados (9); 6. la vitamina A es necesaria para la regulación de la glándula tiroides por la hipófisis (10,11).

La vitamina A dietética ingerida como ésteres de retinilo, es hidrolizada a retinol por la enzima pancreática retinil-éster-hidrolasa en el intestino delgado o por otra enzima hidrolítica que se cree esté ligada al villi de la mucosa intestinal (5,12).

La absorción de retinol parece ser un proceso activo, ya que inhibidores metabólicos tales como el 2, 4 dinitrofenol, cianuro de potasio y fluoruro de sodio, así como la falta de oxígeno, inhiben la acumulación de vitamina A dentro de las células de la mucosa y su transporte a través del intestino (13). La vitamina A es más rápidamente absorbida cuando se suministra emulsificada; aunque la emulsificación incrementa la velocidad de absorción, no aumenta su utilización biológica (14). Otros factores que afectan la eficiencia de la absorción de vitamina A son la digestibilidad de los alimentos, la presencia o ausencia de agentes reductores u oxidantes, la cantidad y tipo de grasa dietética, la naturaleza y cantidad de la proteína dietética, la integridad de la mucosa intestinal y el estado hormonal y fisiológico del organismo (13).

El retino que es absorbido por la mucosa es rápidamente reesterificado principalmente a palmitato, aunque también se forman esteateratos y oleatos. Estos ésteres de retinilo son normalmente transportados por vía linfática, principalmente en asociación con los quilomicrones, los cuales son removidos de la circulación por el hígado (8). El retinal ingerido en la dieta, sufre transformaciones en la mucosa intestinal antes de ser absorbido. Una pequeña parte es oxidado a ácido retinoico, pero la mayoría es reducido a retinol (5). El ácido retinoico es transportado a la circulación general vía la vena porta, probablemente en forma de anión carboxilado, ligado a albúmina sérica. El ácido retinoico no se almacena en el hígado ni en ningún otro tejido, sino que es rápidamente metabolizado, transformándose en metabolitos más polares y es excretado en la orina y en la bilis. El principal metabolito del ácido retinoico en la bilis se ha identificado como beta-glucuronato de retinilo. Pequeñas cantidades de ácido retinoico entran en la circulación enterohepática después de la disociación del glucuronato en el intestino (13).

La vitamina A se almacena en los hepatocitos en gotitas de grasa como ésteres de retinilo, principalmente palmitato; menos del 4% de la vitamina A almacenada en el hígado se encuentra en las células de Kupffer (3,8). Para ser movilizados del hígado, los ésteres de retinilo son hidrolizados por una hidrolasa de palmitato de retinilo, la cual ha sido encontrada en la fracción subcelular nuclear de hígado de rata, fracción en la que está contenida la membrana plasmática (13). La vitamina A se moviliza del hígado como alcohol, *i.e.*, retinol, el cual es enlazado a una proteína específica de transporte, la proteína ligadora de retinol (PLR) siendo ésta la forma en que la vitamina A va a los tejidos (5,8,13,15). La PLR fue por primera vez aislada en 1968 por Kanai (16) desde entonces se han

realizado muchos estudios acerca de la composición, origen y función de la PLR (17,22). La PLR es una proteína de peso molecular alrededor de 20,000, que liga al retinol en una proporción molar de 1:1. En el plasma, la PLR ligada al retinol (holo-PLR) circula formando un complejo con prealbumina en una proporción de 1:1; esta prealbumina tiene un peso molecular de 50,000. El complejo con prealbumina incrementa la estabilidad de la holo-PLR y eleva el peso molecular de la PLR previniendo así la pérdida de esta proteína por filtración a través de los glomérulos del riñón (23). El sistema de transporte de la vitamina A que envuelve a la PLR, parece ser muy común en una amplia variedad de animales: en mamíferos, aves, reptiles y anfibios el retinol es transportado ligado a PLR y formando un complejo con prealbumina, como ya se describió. En los renacuajos y peces la PLR transporta el retinol, pero sin formar el complejo con prealbumina. La lamprea es un caso especial en que la vitamina A es transportada como ésteres de retinilo ligados a una lipoproteína de elevado peso molecular (24,25). Al parecer la PLR de los peces es un prototipo de PLR específica en el plasma de los vertebrados, habiéndose modificado tardíamente en el desarrollo filogenético de los vertebrados, para adquirir en la molécula un sitio de unión para la prealbumina (25).

Puesto que el mantenimiento de un nivel sanguíneo normal de retinol depende de una adecuada concentración de PLR, éste es influido por la disminución en la biosíntesis de proteínas debido a una deficiencia dietética de proteínas. Una deficiencia de proteínas consecuentemente interfiere seriamente con el transporte de vitamina A, pues disminuye el nivel sanguíneo de retinol, siendo así un factor importante que puede desencadenar una deficiencia de esta vitamina (26,28).

La eliminación de la vitamina A del organismo se lleva a cabo

por 3 vías diferentes, las heces, la orina y el CO₂ expirado. La aparición de vitamina A en las heces es debida a la formación de beta-glucuronidos, los cuales son excretados por la bilis; por esta vía es más extensivamente eliminado el ácido retinoico. Los metabolitos en la orina han sido parcialmente identificados como retinoil-beta-glucuronidos. La tercer vía envuelve la des carboxilación de la cadena lateral de la vitamina A, principalmente de los átomos C14 y C15, y en menor grado se presenta una degradación mas extensa de la cadena lateral (13).

El metabolismo de la vitamina A se interrelaciona con el de otros factores nutricionales, tales como la vitamina E y el zinc. Se ha reportado que la absorción de vitamina A se ve marcadamente reducida en ratas deficientes en vitamina E. Cuando a estos animales se les da oralmente un suplemento de vitamina E, se incrementa la utilización de vitamina A oralmente suministrada. Cuando la vitamina A se suministra intramuscularmente en forma emulsificada, la utilización de ésta en animales deficientes en vitamina E, se reduce. Con inyección simultánea de vitamina E, la utilización de vitamina A se incrementa. Por esto, la influencia de la vitamina E en promover la utilización de la vitamina A, no está limitada a favorecer la absorción intestinal (14). Por otro lado, se ha observado que se requieren adecuadas cantidades de zinc para el mantenimiento normal de la concentración sérica de vitamina A (29,31).

Deficiencia: actualmente se sabe que la deficiencia de vitamina A causa principalmente cuatro diferentes efectos a saber 1. Pérdida de la visión nocturna, debido a fallas en la formación de rodopsina en la retina; 2. Defectos en el crecimiento de los huesos; 3. Defectos en la reproducción; 4. Defectos en la diferenciación y crecimiento del tejido epitelial, los que frecuentemente resultan en queratinización (32).

Se ha observado que en animales jóvenes alimentados con dietas deficientes en vitamina A, el crecimiento del esqueleto cesa antes que cualquier otro tejido del cuerpo (3). En deficiencia de vitamina A, las células del tejido cartilaginoso no siguen el patrón normal de crecimiento, maduración y degeneración, y como resultado cesa la formación de hueso y aparecen anomalías en su forma (2). La deficiencia de esta vitamina también retrasa grandemente la reparación de fracturas en las ratas (3).

Siendo que la vitamina A participa en la esteroidogénesis, su carencia tiene efecto en el metabolismo de las hormonas sexuales, inhibiendo la capacidad de reproducción. Asimismo, en deficiencia de retinol, las hormonas que intervienen en el metabolismo del glucógeno, como por ejemplo la corticosterona, no pueden formarse en cantidad suficiente (33,34). En la rata hembra, la deficiencia de este factor causa estros irregulares y retrasados, defectos en el crecimiento y desarrollo del ovario, períodos de gestación prolongados y partos difíciles; en el macho, defectos en la espermatogénesis. En los cerdos la hipovitaminosis A de la madre puede resultar en anoftalmia y fisura palatina en el feto; en la rata el feto puede desarrollar defectos congénitos de los ojos y del corazón (13).

Por otra parte, en deficiencia de esta vitamina las estructuras epiteliales se queratinizan, especialmente las respiratorias, gastro-intestinales y genitourinarias, así como las glándulas salivares, las endocrinas y la vagina. Además, causa atrofia en el órgano del esmalte de los roedores, y en el hombre puede resultar en hiperqueratosis folicular y dermatitis (3,34). Otro efecto de la deficiencia de la vitamina A en los epitelios es la xeroftalmia, en la cual primeramente la córnea se vuelve opaca y posteriormente sobrevienen los cambios irreversibles, que incluyen

perforación y queratomalacia, lo que conduce a la ceguera (35,36).

Respecto a la interacción de la vitamina A con el metabolismo de la tiroides, se ha reportado que ratas deficientes en este factor, muestran altos niveles séricos de tiroxina y triiodotiroxina junto con hipertrofia de la tiroides; también el contenido hipofisiario de tirotrópina y el factor liberador de tirotrópina en el hipotálamo se hayan elevados. Por esto, se ha postulado que en deficiencia de vitamina A la regulación por retroalimentación negativa del cerebro por la hormona tiroidea se haya alterada (3,10,11).

La deficiencia de vitamina A se ha relacionado con la anemia (37,38). Se ha observado en el hombre y en la rata, que al disminuir el nivel sérico de retinol por suministrarse dietas deficientes en este nutriente, disminuye también de manera significativa la cantidad de hemoglobina en la sangre, la cual vuelve a niveles normales al normalizarse el nivel sérico de retinol. Asimismo, se ha reportado que en ratas deficientes en vitamina A la acumulación de hierro en el hígado y en el bazo aumenta más de lo normal, esto posiblemente debido a que en deficiencia de esta vitamina el hierro es patológicamente almacenado en el hígado y el bazo o, alternativamente, a que al no ser utilizado por el tejido hematopoyético se acumula en dichos órganos.

En animales deficientes de vitamina A la incidencia de cáncer es más alta que en animales que reciben cantidades normales de este factor. En algunos casos la administración de muy altas dosis de vitamina A ha causado una regresión de los tumores; sin embargo, la extremada toxicidad de esta vitamina la hace una droga inconveniente para el tratamiento de ciertos tipos de neoplasmas (39,41).

Hipervitaminosis: la toxicidad de la vitamina A ha sido extensivamente estudiada por muchos años; desde cuando se reportó el curioso

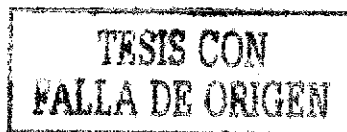
síndrome de dolor de cabeza, vértigo y diarrea subsecuente a la ingestión de hígado de oso que se observó en los exploradores árticos en 1857; sin embargo, no fué sino hasta 1942 cuando Rodahl y Moore indentificaron la sustancia tóxica en el hígado de oso polar como vitamina A (42). Aunque las técnicas modernas han suministrado, ya una gran cantidad de datos, la exacta patogénesis de la toxicidad debida a la alta ingestión de vitamina A, permanece oscura (43).

En el hombre, la principal causa de hipervitaminosis A es el uso inmoderado de los preparados comerciales de vitaminas, algunos de los cuales exceden por mucho los requerimientos diarios del organismo, debido a que se ha fijada en la mente del público la creencia de que la adición de vitaminas a aquellas contenidas en una dieta general, mejora la salud, incrementa la resistencia a infecciones y acelera la convalecencia de cualquier tipo de enfermedad. También existen reportes sobre intoxicación con vitamina A, por consumo excesivo de aceite de hígado de bacalao.(44) Hipervitaminosis A se ha reportado tanto en infantes como en adultos (2,42,44,46). Los síntomas de envenenamiento agudo de vitamina A en el humano, generalmente icnluyen somnolencia, irritabilidad, vértigo, dolor de cabeza, vómito, enrojecimiento e hinchazones eritematosas de la piel, y engrosamiento de las palmas de las manos y plantas de los pies. Los síntomas de hipervitaminosis crónica pueden incluir irritabilidad, dolor de cabeza, dermatosis, alopecia, anorexia, pérdida de peso, erupciones maculoeritematosas en hombros y espalda, piel seca y escamosa con pruritis, enofías enrojecidas y gingivitis, hemorragias nasales y de la mucosa bucal, náusea persistente, visión confusa y alteraciones en el ciclo menstrual; también se presenta patología extensiva de los huesos, incluyendo desmineralización, lo que conduce ha hinchazones dolorosas de las extremidades acompañadas con impedimento de la función locomotora.

Asimismo, se ha reportado hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia y un incremento de la presión del fluido cerebrospinal; sin embargo, a diferencia y contrariamente a lo que ocurre en el hombre, este último síntoma se presenta en becerros sólo cuando hay deficiencia de esta vitamina (47). Quizá los efectos tóxicos más serios de la elevada ingestión de vitamina A son los daños irreparables del hígado, y la permanente inhibición del crecimiento óseo debido a necrosis de las placas de crecimiento endocondral (45). Las principales lesiones hepáticas son necrosis, fibrosis y cirrosis, que ocasionan obstrucción de la circulación portal, anomalías en las funciones hepáticas y desarrollo de ascitis e hipertensión portal (48). Las anomalías funcionales del hígado generalmente consisten en ligeros cambios de las fosfatasas alcalinas, retención de sulfobromoftaleína y tiempos de protrombina. Sin embargo, pocos estudios histológicos del hígado en hipervitaminosis han sido reportados: en la mayoría de los casos los hallazgos han sido de poca consideración, excepto por la vacuolización de las células de Kupffer y el incremento de la fluorescencia en cortes por congelación (48). Así, sutiles cambios bioquímicos pueden ocurrir en el hígado, sin obvias manifestaciones morfológicas.

Serios problemas de hipervitaminosis A existen por el uso de grandes dosis de vitamina A en el tratamiento del acné vulgaris (49). Las mujeres que toman anticonceptivos orales muestran un incremento de los niveles séricos de vitamina A; se ha sugerido que esto podría resultar en anomalías fetales en mujeres que quedaran embarazadas inmediatamente después de prolongada ingestión de anticonceptivos. Sin embargo, aún no hay evidencia que compruebe esta idea (43,50).

La dosis de vitamina A necesaria para producir hipervitaminosis en un animal, depende de la especie de que se trate: el ternero y el



cerdo están en un rango de susceptibilidad semejante al hombre (aproximadamente 1,000 a 3,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal/día), mientras que la rata y carnívoros tales como el perro y el gato, y probablemente el oso polar y la foca, pueden tolerar dosis extremadamente altas (20,000 - 60,000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) antes de mostrar efectos clínicos de hipervitaminosis (45).

Un exceso de vitamina A en la dieta causa una aceleración de la reabsorción de los huesos, que resulta en fragilidad ósea y fracturas espontáneas, exoftalmía, engrosamiento temporal de la piel, alopecia, eritema, formación de células mucosas en las membranas queratinizadas, hemorragias y disminución del crecimiento (4,45,51,54). Por otro lado, hay evidencia considerable del efecto teratogénico de la vitamina A suministrada en altas dosis en el ratón, rata, jāmster y cobayo. Las malformaciones incluyen fisura palatina, costillas fusionadas, columna vertebral bifida meningocefalia, hidronefrosis y anomalías cardíacas y genitourinarias (43,55). En la rata se producen fracturas y hemorragias uterinas, las cuales parecen ser una manifestación especial de la facilidad general con que se presentan hemorragias en hipervitaminosis A (53). La administración de grandes dosis de retinol a ratas jóvenes durante 2 días, causa un incremento en los niveles de lípidos, glucógeno y citratos en el hígado, así como una marcada estimulación de la gluconeogénesis (56,57).

Hay una tendencia a asociar la toxicidad con fenómenos de membrana: pequeñas cantidades de retinol son esenciales para mantener la estabilidad de las membranas, a través de un ligamento cruzado entre los lípidos y las proteínas de ellas. Cantidades anormales de esta vitamina se combinan con la lipoproteína de la membrana y después con una proteína exógena para lisar células de diferentes tejidos y organelos celulares

(58.59). La acción inicial de exceso de retinol sobre los eritrocitos es una expansión de la membrana celular, seguida por hemólisis (58). La adición de retinol a fibroblastos in vitro, causa desgranulación y tumefacción de el retículo endoplásmico, hinchazón del aparato de Golgi y de las mitcondrias y la formación de citolisomas; las enzimas lisosomales son liberadas por exceso de vitamina A tanto in vitro como in vivo (60). Estudios en cultivo de tejidos con rudimentos de hueso de miembro de pollo, mostraron que la degradación del tejido ocurría cuando se añadía al medio retinol inespecíficamente enlazado a proteínas séricas, debido a la acción proteolítica de una enzima que normalmente se encuentra en los lisosomas (61).

Se ha sugerido que las manifestaciones clínicas de hipervitaminosis A, resultan cuando la cantidad de proteína ligadora de retinol es insuficiente para ligar todo el retinol, quedando así la membrana celular expuesta a la vitamina libre (43). En monos adultos la elevación de los niveles de vitamina A sérica debido a ingestión de dosis tóxicas, no está acompañada de una igual elevación de la proteína ligadora de retinol, lo que sugiere que el retinol no ligado a la proteína es el causante de la toxicidad de ésta (45). Por otro lado, en ratas con hipervitaminosis A se ha encontrado que el mayor porcentaje de vitamina A sérica se encuentra en forma esterificada y ligada a lipoproteínas, mientras que en ratas control se encuentra el mayor porcentaje en forma de retinol unido a proteína ligadora de retinol; esto sugiere, a diferencia de la anterior hipótesis, la existencia de un posible sistema de transporte de vitamina A a los tejidos en forma de ésteres de retinil ligados a lipoproteína lo cual conduce a toxicidad (62).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B) Carotenoides:

En esta sección nos ocuparemos de revisar de manera general, los conocimientos que se tienen en la actualidad sobre los pigmentos carotenoides, considerando más especialmente a aquellos que por sus características químicas pueden ser fuente de vitamina A para los animales. Asimismo, se expondrán las rutas metabólicas que siguen los carotenos con capacidad vitamínica en los mamíferos, y los mecanismos hasta ahora propuestos de síntesis de vitamina A a partir de estos carotenos.

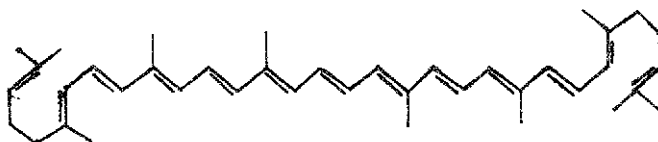
Historia: el estudio de los carotenoides se inició desde principios del siglo XIX. Wackenroder, en 1831, aisló por primera vez carotenos de zanahoria, y Berzelius, en 1857, fue el primero en denominar xantofila a un pigmento amarillo de las hojas de otoño. En 1847 Zeise describe el beta-caroteno con detalle y determina su fórmula empírica $C_{55}H_{8}$. Entre 1900 y 1927, las escuelas de Tswett y Willstätter desarrollaron procedimientos para la separación y purificación de carotenos tales como licopeno, xantofila, fucoxantina, luteína y bixina; a esto siguió la determinación de muchas fórmulas empíricas. Willstätter y Mieg reconocieron en 1907 una conexión formal entre carotenoides e isopropeno, y establecieron la fórmula molecular correcta del beta-caroteno: $C_{40}H_{56}$. En 1922, Palmer contribuyó con un volumen sobre carotenoides y pigmentos relacionados, en una serie de monografías publicadas por la American Chemical Society. Reportes de investigaciones sobre la estructura de los carotenoides por Karrer, Kuhn, Zechmeister y Heilbron empezaron a aparecer en 1928. El concepto de polieno fue primero utilizado por Zechmeister, quien mostró espectroscópicamente que la ocurrencia de dobles enlaces conjugados en la cadena es necesaria para el color de los carotenoides. En 1928 von Euler mostró que el caroteno cristalino tiene una alta actividad de vitamina A. Entre 1930 y 1931, Karrer reconoció la naturaleza simétrica de las estructuras de beta-caroteno, licopeno y zeaxantina y entonces observó que la

constitución de la vitamina A estaba cercanamente relacionada con la mitad de la molécula de beta-caroteno. En 1930 Moore demostró con claros experimentos en ratas que el caroteno consumido en la dieta es metabolizado a vitamina A y almacenado como tal en el hígado. Poco más tarde Karrer y sus colegas aislaron mutacrocromo y aurocromo, y elucidaron la estructura de los 5,6 y 5,8-epóxidos por medio de la síntesis parcial. En 1934 Zechmeister publicó su libro titulado "Carotinoide, ein biochemischer bericht über pflanzliche und tierische polyenfarbstoffe", el cual actuó como puente entre el estudio anterior de Palmer y el de Karrer y Jucker titulado "Carotinoids", publicado en 1950. El número de carotenoides conocidos que se encuentran en la naturaleza, se incrementó entre 1933 y 1948 de 15 a 80, y se estableció la estructura de 35 de ellos. Las investigaciones en la síntesis de vitamina A y las de beta-caroteno progresaban de igual manera, y después de que en los laboratorios Roche habían desarrollado un proceso para la síntesis de vitamina A, las escuelas de Karrer y de Inhoffen lograron casi simultáneamente la síntesis total de beta-caroteno en 1950. Posteriormente Witting desarrolló el método de "Síntesis de Olefinas" para carotenoides, el cual ha llegado a ser un método estándar en química orgánica. El beta-caroteno sintético cristalino fue introducido comercialmente por los laboratorios Roche en 1954, como colorante de alimentos. Su principal aplicación es la coloración y fortificación de margarina. En 1960 apareció comercialmente el beta-apo-8'-carotenal, en 1962 el ester del ácido beta-apo-8'-carotenoico y en 1964 la canthaxantina, todos ellos como colorantes de alimentos (63,64).

Química: el término "carotenoides" se refiere a un grupo de pigmentos de color amarillo a rojo, los cuales en la naturaleza están ampliamente distribuidos tanto en vegetales como en animales. La estructura general de los carotenoides es de tipo alifático o alifático-alicíclico; sus sistemas cromóforos consisten principal o enteramente de una

cadena de dobles enlaces conjugados. Todos son liposolubles y el término que se les da de lipocromos se deriva de esta propiedad. Aunque la mayoría de los carotenoides son de brillantes colores debido a la presencia de un cromóforo, algunos tienen cromóforos poliénicos muy cortos para ser detectados por el ojo humano, i.e., son incoloros (63,65).

Esta clase de compuestos están formados en general por ocho unidades de isopropeno ligadas de tal manera que a la mitad de la molécula se invierten las uniones de isopropenos; como resultado de esto, los dos grupos metilo cerca del centro de la cadena de polienos, están separados por seis átomos de carbono. Esto se ilustra en la fórmula estructural del pigmento del tomate, el licopeno, del cual casi todos los carotenos pueden ser derivados por hidrogenación, deshidrogenación, ciclización, oxidación o cualquier combinación de estos procesos (64,66).



Fórmula estructural de Licopeno

Existen también carotenoides formados por 50 átomos de carbono en su molécula, es decir, por diez unidades de isopropeno, y otros formados por menos de 40 átomos de carbono; estos últimos se denominan apocarotenoides. La mitad de los carbonos de la molécula se enumeran del 1 al 15 y los de la otra mitad del 1' al 15'; los grupos metilos de la primera mitad se enumeran del 16 al 20, y los de la otra del 16' al 20'.

La mayoría de los pigmentos carotenoides contienen uno o más átomos de oxígeno en su estructura, y pertenecen a la clase de las xantofilas-C₄₀ (64).

En la actualidad se conocen 300 compuestos del grupo de los carotenoides; de éstos los que tienen actividad de vitamina A son los que

presentan en uno de sus extremos un anillo beta-ionon (66).

Distribución: la habilidad de los seres vivos para producir carotenos parece haberse desarrollado en etapas tempranas de la evolución. Algunas bacterias, las algas, las plantas superiores y algunos hongos tienen esta capacidad, pero los animales, de seguro los ordenes superiores, dependen para su suministro de los carotenoides presentes en la dieta. Sin embargo, la subsecuente transformación de los carotenoides dietéticos algunas veces conduce a pigmentos animales característicos, que no se encuentran normalmente en los organismos capaces de carotenogénesis de novo (65,67).

La producción total en la naturaleza ha sido conservadoramente estimada en alrededor de 10^8 toneladas al año (65). La mayoría de esta producción está en la forma de los cuatro mayores carotenoides; la fucoxantina, que es el pigmento característico de muchas algas marinas y el más abundante de todos los carotenoides naturales, y los tres principales de las hojas verdes; luteína, violaxantina y neoxantina. Por comparación, todos los otros carotenoides son producidos en muy pequeñas cantidades, aunque algunos como el beta-caroteno y la zeaxantina están ampliamente distribuidos en la naturaleza, mientras que otros, tales como el licopeno, la bixina y la espiriloxantina, constituyen el principal pigmento de algunos organismos en particular. Todas las plantas verdes contienen beta-caroteno, el cual invariablemente acompaña a la clorofila junto con la xantofila, los epóxidos de xantofila y frecuentemente con el alfa-caroteno (63).

En los animales los carotenoides son los pigmentos más ampliamente distribuidos después de las melaninas (68).

Funciones: los carotenoides en las plantas tienen dos funciones: participan en la fotosíntesis y son sustancias fotoprotectoras.

En la fotosíntesis intervienen absorbiendo energía y transfiriéndola a la clorofila en el fotosistema I, en el fotosistema II o en ambos. La otra función es la de protección de la planta contra una sensibilización fotodinámica, esto es, previene la muerte celular por la luz y el oxígeno. Esto explica el por qué de que en la naturaleza no existan normalmente plantas con clorofila pero sin carotenoides coloreados, pues esto representa una mutación letal (69,70).

Aunque una amplia variedad de observaciones y sugerencias de relaciones entre pigmentos carotenoides y varios sistemas biológicos han sido reportados, hay poca evidencia directa de los papeles funcionales de los carotenoides fuera de sus fotofunciones (70).

En los organismos animales los carotenoides se hayan unidos a proteínas como grupos prostéticos. La formación de complejos carotenoides-proteína da mayor estabilidad tanto a la proteína en su configuración, como al caroteno en su sensibilidad a la oxidación. Las carotenoproteínas son empleadas por los animales inferiores para mimetizarse con el medio. Estos compuestos parecen tener un papel definido en la supervivencia de los embriones, particularmente en la ovoposición de los invertebrados; las carotenoproteínas pueden funcionar en mecanismos de transporte de electrones (68).

Algunas aves e invertebrados como crustáceos, insectos y equidernos, son capaces de transformar los carotenoides que ingieren con la dieta, en pigmentos característicos que dan color a sus plumajes y tegumentos; parece ser que el mecanismo que utilizan es una conversión de los carotenos y xantofilas a ceto-carotenos y ceto-xantofilas (68).

Al igual que en las plantas se ha encontrado que los pigmentos carotenoides también confieren protección a los animales contra la fotosensibilización. Por ejemplo, el fitoeno, que es un precursor inco-

loro del beta-caroteno, y el mismo beta-caroteno que ha sido recientemente utilizado para aminorar la fotosensibilidad asociada con protoporfiria eritropoyética - una enfermedad del metabolismo de las porfirinas - el cual quizás sea también útil en otras enfermedades fotosensitivas (71, 72).

Se ha sugerido que los carotenoides pueden estar involucrados en la acumulación intracelular de oxígeno: Karnaukhov ha encontrado que con el incremento en la altitud del habitat, el nivel de carotenoides en el cerebro y el hígado aumenta en la ardilla listada, mientras que el ratón campestre exhibe un incremento en el contenido de carotenoides en el bazo, pulmones y corazón. El incremento de estos niveles podría estar asociado con adaptación del animal a condiciones hipóxicas (73).

Quizás la función más importante de los carotenoides en los animales es la de ser precursores de vitamina A, al menos ésta es la más extensivamente estudiada, y por ser la que más nos interesa en este estudio revisaremos a continuación las investigaciones fundamentales hasta hoy realizadas sobre esta materia.

Metabolismo: ciertos carotenoides pueden ser transformados en vitamina A por los organismos animales; esta propiedad es una de las más importantes de los carotenoides en los animales. Los carotenoides que son precursores de vitamina A presentan las siguientes características químicas: poseen un anillo beta-ionon y una cadena lateral isoprenoide con todos sus dobles enlaces conjugados (13). Existen muchos carotenoides que se transforman en vitamina A pero varían en su capacidad para promover el crecimiento en animales deficientes en esta vitamina. Los principales carotenoides con actividad vitamínica A en orden decreciente son: beta-caroteno, beta-apo-12'-carotenal, beta-apo-8'-carotenal, criptoxantina, equinenona, alfa-caroteno, gamma-caroteno, éster etílico del ácido

beta-apo-8'-carotenoico, beta-zeacaroteno, torularodina y citroxantina. La actividad de estos carotenoides se ha estimado por medio de ensayo curativo en ratas deficientes en vitamina A (71). La equivalencia entre unidades internacionales de vitamina A y beta-caroteno varía considerablemente según las condiciones del ensayo; la Organización Mundial de la Salud ha propuesto equiparar 1 UI de vitamina A con 1.8 mcg de beta-caroteno (34).

La conversión de los carotenoides a vitamina A en los animales ha sido principalmente estudiada en la rata; este animal es muy adecuado para este tipo de estudios ya que casi no absorbe beta-caroteno intacto a través de la mucosa intestinal, lo que lo diferencia de otros organismos como el caballo, el hombre, el pollo, la vaca, los cuales son capaces de absorber cantidades substanciales de beta-caroteno intacto a través del intestino hacia la circulación general (8).

El intestino delgado es el órgano más importante para la formación de vitamina A a partir de carotenoides; el duodeno y el yeyuno son más activos en la degradación del caroteno mientras que el íleon es menos efectivo (75). Sin embargo, aunque el intestino delgado es el sitio de mayor conversión de beta-caroteno a vitamina A, otros tejidos son capaces de realizar esta conversión: el hígado de rata perfundido es capaz de convertir beta-caroteno en ésteres de retinol, aunque su actividad es menos de la mitad de la del intestino. Así, pues, animales como la rata, en los cuales el beta-caroteno no atraviesa la mucosa intestinal hacia el plasma, el hígado probablemente juega un papel fisiológico menor en la formación de retinol; en otras especies, tales como el hombre y la vaca, tanto el hígado como el intestino están probablemente involucrados en la degradación del beta-caroteno (76). En estudios *in vitro* se ha encontrado que el riñón también es activo en la conversión del beta-caroteno a vitamina, aunque su actividad es considerablemente menor que la del

hígado; esta actividad no se presenta en preparados de corazón, pulmón ni sangre (13).

Se han sugerido dos mecanismos para la formación de vitamina A: 1. Por medio de la disociación central del beta-caroteno, esto es por rompimiento del doble enlace 15,15' para rendir dos moléculas de vitamina A; 2. Por la desintegración escalonada de la provitamina desde un extremo de la cadena conjugada hasta producir una molécula de vitamina (5,8,68,77,78). Varios tipos de evidencia indirecta han sido citados para apoyar ambos mecanismos: el primero se explica por la acción de la enzima 15,15' dioxigenasa, que es una enzima soluble de la mucosa que cataliza el rompimiento del beta-caroteno en la doble ligadura central; parece que esta disociación se lleva acabo a través de una reacción de oxigenación, en la cual el oxígeno molecular reacciona con el doble enlace central para formar un compuesto intermediario, el 15,15' peróxido de beta-caroteno, el cual rápidamente se disocia para producir dos moléculas de retinaldehído. Esta enzima se encuentra ampliamente distribuída en los vertebrados solamente los carnívoros como el gato carecen de ella; sin embargo, hasta hoy sólo ha podido ser parcialmente purificada a partir del intestino de rata, cerdo y conejo, y de hígado de rata. El segundo mecanismo fue propuesto por Glover (78): se apoya en el hecho de que beta-apo-carotenales marcados con isótopos radioactivos son convertidos en los mamíferos en ésteres de vitamina A, con liberación de pequeños fragmentos radioactivos. En trabajos recientes se ha logrado aislar varios beta-apo-carotenales de intestino de rata y de pollo, a los cuales se les suministró beta-caroteno u 8'-apocarotenal; podría decirse que estos apocarotenales aislados son productos intermedios de la degradación escalonada del beta-caroteno (79). Además, el bajo índice de conversión del beta-caroteno a vitamina A observado apoya esta hipótesis (68).

Recientemente se ha sugerido un mecanismo que conjunta los dos anteriores: postula que la enzima 15,15' dioxigenasa no es específica para el enlace central del beta-caroteno, sino que además puede atacar indistintamente otros dobles enlaces para formar diversos apo-carotenales, los cuales pueden sufrir posteriores ataques hasta formar retinaldehído (79).

La reducción del retinaldehído formado es catalizada por una enzima que ha sido parcialmente purificada de la fracción soluble de la mucosa intestinal de la rata, la cual se ha denominado retinaldehído reductasa (80). El retinol formado es absorbido y esterificado por el intestino siguiendo la misma vía del retinol dietético.

La formación de ésteres de vitamina A a partir de beta-caroteno se incrementa linealmente con dosis pequeñas de beta-caroteno (de 0 a 80 mcg), pero es menos dependiente en altas dosis (de 0.1 a 0.6 mg). La máxima conversión de beta-caroteno observada en el intestino de rata ha sido 10 a 20 veces más que el requerido para el óptimo crecimiento (75).

La transformación de beta-caroteno en vitamina A es afectada por varios factores, tales como la forma en que se suministra a los animales y la presencia de bilis. La adición de grasa a la dieta favorece la absorción de caroteno, incrementa los niveles séricos de retinol y se asocia con una reducción en los síntomas de deficiencia de vitamina A (2). Se ha observado que la formación de esta vitamina sólo ocurre en soluciones bien dispersas de beta-caroteno y en presencia de bilis (75). La acción de los varios ácidos biliares probados es la de incrementar la conversión del caroteno, siendo este incremento proporcional al número de hidroxilos que el ácido presente. Con la excepción del ácido cólico, sólo los ácidos biliares conjugados tienen esta propiedad. Mientras menos grupos hidroxilos tenga el ácido, menor es su efecto de formación de ésteres de vitamina A en el intestino a partir de beta-caroteno, siendo

el ácido dehidrocólico el menos activo (81).

Por otro lado, ratas tratadas con cortisona son incapaces de convertir adecuadamente caroteno a vitamina A. Asimismo, ratas tratadas con aloxana, que es un tóxico para las células B (beta) del páncreas empleado para producir diabetes experimental, muestran un decremento en la síntesis de vitamina A. Un elevado nivel sérico de caroteno ha sido reportado en pacientes con diabetes y con mixedema siendo en estos la carotenemia un hallazgo común. Esto indica una interacción entre el metabolismo del páncreas y el de los carotenos (3).

Ciertos apocarotenoides y provitaminas A son capaces, después de administración oral, de ser absorbidos y almacenados especialmente en el hígado y en la grasa corporal. En el perro el 8'-apocarotenal se almacena en el mesenterio y tejido adiposo perirrenal; a veces también se halla en la corteza renal, suprarrenales e hígado de animales tratados con altas dosis (82).

Hasta hoy no se ha reportado que la alta ingestión de carotenoides produzca síntomas de hipervitaminosis A; elevadas cantidades de carotenos en la dieta de animales capaces de absorberlos intactos en cantidades considerables sólo producen una coloración amarillenta de la piel, manifestaciones que pueden ser confundidas con la ictericia (3,45).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SEGUNDA PARTE

SECCION EXPERIMENTAL

A) Objetivos:

Los objetivos concretos de los tres experimentos que aquí se reportan, fueron: 1. Estudiar diferentes niveles de vitamina A en relación con su demostrada acción litogénica (1,83), para establecer el nivel mínimo al cual esta vitamina exhibe litogenicidad; 2. Con base en información preliminar, que sugería una posible influencia de la zanahoria en la litogénesis producida por la mantequilla (84), estudiar la posible acción litogénica o potencializadora de la zanahoria cruda, con base en su contenido de carotenoides, los cuales como provitaminas A podrían tener la misma acción litogénica que la ya demostrada para esta vitamina; 3. Poner a prueba la posible acción litogénica del beta-caroteno, en suspensión oleosa y en forma hidrodispersable considerando que a través de su conversión en el organismo a vitamina A, pudiese exhibir la litogenicidad comprobada para la vitamina.

B) Material y Métodos:

En los tres experimentos llevados a cabo se utilizaron jámenes dorados machos, recién destetados, de la cepa ChCM, la cual hasta hoy no ha producido mutantes de color de la piel.

Los miembros de cada camada fueron distribuidos en forma que

participaran más o menos por igual en los distintos grupos. Los animales fueron mantenidos en jaulas experimentales de hierro galvanizado con piso de malla metálica, y alimentados con los diversos tipos de dietas y agua corriente ad libitum; en los tres experimentos la ración básica fue Purina Rodent Laboratory Chow 5001 (Purina)*. Las dietas y el agua se suministraron en recipientes de hierro galvanizado.

Todos los grupos fueron pesados semanalmente para determinar sus curvas de crecimiento. Al final de los experimentos los jánsteres fueron sacrificados por fractura de la nuca, habiéndose practicado las necropsias inmediatamente después. Se empleó la prueba de X^2 para el análisis estadístico de los resultados.

Primer Experimento

En este experimento se probó la posible acción litogénica de cinco niveles de vitamina A siendo el más alto de ellos el de 15 000 UI%, que es nivel litogénico más bajo establecido en nuestros anteriores estudios (1,83).

Se montaron 5 grupos de 14 animales cada uno, los cuales fueron alimentados durante 114 días experimentales con la ración básica (Purina pulverizada), a la cual se le agregaron las adiciones siguientes: Grupo 1, Purina + 15 000 UI% de vitamina A (Dry Vitamin A Acetate Type 500**); Grupo 2, Purina + 10 000 UI% de vitamina A; Grupo 3, Purina + 5 000 UI% de vitamina A; Grupo 4, Purina + 2 500 UI% de vitamina A; Grupo 5, Purina + 1 500 UI% de vitamina A.

Las dietas fueron preparadas cada 5 días y conservadas en refrigeración hasta el momento de suministrarse a los animales.

* Procedente de Ralston Purina Co., St. Louis, Mo., U.S.A.

** Procedente de Productos Roche S.A. de C.V., México, D.F.

El contenido de vitamina A, en UI%, en la dieta de cada grupo fue: Grupo 1, 16 700; Grupo 2, 11 700; Grupo 3, 6 700; Grupo 4, 4 200; Grupo 5, 3 200.

Este experimento se llevó a cabo entre agosto y noviembre de 1978.

Segundo Experimento

En este estudio se puso a prueba la posible acción litogénica o potencializadora de la zanahoria sobre la acción litogénica de la manteca.

Se establecieron 10 grupos de 16 animales cada uno, los cuales fueron alimentados durante 50 días experimentales con la misma ración básica (Purina pulverizada) a la cual se le agregaron las adiciones siguientes:

Grupo A, Purina sola; Grupo B, 75% Purina + 25% zanahoria; Grupo C, 75% Purina + 25% manteca*; Grupo D, 50% Purina + 25% manteca + 25% zanahoria; Grupo E, 80% Purina + 20% manteca; Grupo F, 55% Purina + 20% manteca + 25% zanahoria; Grupo G, 85% Purina + 25% manteca; Grupo H, 60% Purina + 15% manteca + 25% zanahoria; Grupo I, 90% Purina + 10% manteca; Grupo J, 65% Purina + 10% manteca + 25% zanahoria.

La zanahoria fresca fue rayada finamente y mezclada con la Purina; luego a esta mezcla se le incorporó la manteca. Las dietas fueron preparadas cada 5 días y conservadas en refrigeración hasta el momento de suministrarse a los animales.

Se utilizaron varios niveles de manteca con el objeto de disminuir la litogenicidad de la dieta y así poder observar más cla-

* Procedente de Productos de Leche S.A., México, D.F.

ramente el posible efecto potencializador de la zanahoria.

Este experimento se llevó a cabo entre enero y febrero de 1979.

Tercer Experimento

Este experimento se realizó para probar la posible acción litogénica del beta-caroteno, ya que, como es sabido, es precursor importante de vitamina A para la mayoría de los animales.

Se formaron 8 grupos de 20 animales en cada uno, los cuales fueron alimentados durante 68 días experimentales con la misma ración básica (Purina pulverizada), a la cual se le agregaron las adiciones siguientes:

Grupo I, Purina sola; Grupo II, Purina + 15 000 UI% de vitamina A; Grupo III, 97.3% Purina + 2.7% beta-caroteno hidrodispersable*; Grupo IV, 95% Purina + 5.0% de beta-caroteno hidrodispersable; Grupo V, 90.0% Purina + 10.0% de beta-caroteno hidrodispersable; Grupo VI, 99.1% Purina + 0.9% de beta-caroteno en suspensión oleosa**; Grupo VII, 98.0% Purina + 2.0% de beta-caroteno en suspensión oleosa; Grupo VIII, 96.0% Purina + 4.0% de beta-caroteno en suspensión oleosa.

El contenido de vitamina A en la dieta de cada grupo, considerando la equivalencia de 1 UI de vitamina A = 1.8 mcg de beta-caroteno, propuesta por la Organización Mundial de la Salud, y sabiendo que la Purina contiene 1 700 UI%, fue el siguiente:

* Polvo finamente granulado que contiene 10% de beta-caroteno solubilizado, disperso en una matriz de gelatina y azúcar, procedente de Productos Roche, S.A. de C.V., México, D.F.

** Suspensión que contiene 30% de beta-caroteno microcristalizado en aceite de maní, procedente de Productos Roche, S.A. de C.V., México, D.F.

Grupo I, 1 700 UI%; Grupo II, 16 700 UI%; Grupo III, 151 654; Grupo IV, 279 393 UI%; Grupo V, 557 085 UI%; Grupo VI, 151 684 UI%; Grupo VII, 334 999 UI%; Grupo VIII, 668 298 UI%. En este experimento el Grupo II que recibió 15 000 UI% de vitamina A, se incluyó sólo como un grupo, control litogénico de referencia general, ya que los niveles usados en todos los grupos que recibieron beta-caroteno fueron aproximadamente 10, 20 y 40 veces más altos que el Grupo II.

Este experimento se llevó a cabo entre febrero y abril de 1979.

C) Resultados:

Primer Experimento

Los resultados de este experimento, presentados en la Tabla 1, son los siguientes:

1. La ración básica adicionada de 15 000 UI% de vitamina A (Grupo 1), produjo un alto porcentaje de animales con cálculos (78.6%).
2. La adición de 10 000 UI% de vitamina A a la ración básica de Purina (Grupo 2), indujo una alta frecuencia de colelitiasis (64.3%), pero inferior en un 14.3% al de los animales que recibieron 15 000 UI% de vitamina (Grupo 1).
3. La Purina adicionada de 5 000 UI% de vitamina A (Grupo 3), produjo colelitiasis en el 33.3% de los animales, que es aproximadamente la mitad del porcentaje producido por la adición de 10 000 UI% de vitamina A (Grupo 2).
4. El suplemento de 2 500 UI% de vitamina A a la Purina (Grupo 4), indujo una baja frecuencia de colelitiasis (14.3%).
5. La adición de 1 500 UI% de vitamina A a la Purina (Grupo 5) no produjo cálculos.

Asimismo, los datos suministrados en la Tabla 1, en cuanto al peso promedio de los cálculos en cada grupo, muestran que éste fue dis-

TABLA 1

Frecuencia de cálculos biliares en el Primer Experimento

GRUPOS Y DIETAS	No. TOTAL DE ANIMALES	No. ANIMALES CON CALCULOS	PORCENTAJE DE ANIMALES CON CALCULOS	PESO PROMEDIO DE LOS CALCULOS EN CADA GRUPO, EN mg
¹ Purina + 15 000 UI% Vitamina A	14	11	78.6	1.26
² Purina + 10 000 UI% Vitamina A	14	9	64.3	0.66
³ Purina + 5 000 UI% Vitamina A	12*	4	33.3	0.47
⁴ Purina + 2 500 UI% Vitamina A	14	2	14.3	0.12
⁵ Purina + 1 500 UI% Vitamina A	14	0	0	0

* De los 14 jámsteres originales de este grupo, murieron dos por afecciones espontáneas al comienzo del experimento

minuyendo conforme se disminuía el nivel de vitamina A, siendo el mayor peso promedio el exhibido por el grupo que recibió 15 000 UI% de esta vitamina (Grupo 1).

Los resultados de este experimento muestran que la vitamina A a los niveles de 15 000 y 10 000 UI% adicionada a la dieta básica, produce una alta frecuencia de animales con cálculos, la cual va disminuyendo conforme se reduce el nivel de esta vitamina en la dieta, hasta que al nivel de 1 500 UI% la vitamina A no tiene acción litogénica.

El análisis estadístico de estos resultados muestra que hay diferencia en la frecuencia de animales con cálculos al nivel de significación de 0.025, entre el grupo que no presentó animales con cálculos (Grupo 5) y los que los presentaron (Grupos 1, 2 y 3), excepto con el grupo que exhibió el menor porcentaje de animales con cálculos (Grupo 4). Entre los grupos que presentaron colelitiasis, existió diferencia entre el grupo con menor frecuencia de colelitiasis (Grupo 4) y los grupos que mostraron las más altas frecuencias (Grupos 1 y 2); sin embargo, no hubo diferencia a este nivel entre el grupo con baja frecuencia de cálculos (Grupo 4) y el grupo que presentó una incidencia media de colelitiasis (Grupo 3). Este último grupo mostró diferencia significativa con el grupo que exhibió la mayor incidencia de cálculos (Grupo 1), pero no mostró diferencia significativa con el otro grupo de alta frecuencia de colelitiasis (Grupo 2). Por último, no hubo diferencia entre los grupos con alta frecuencia de cálculos (Grupos 1 y 2).

En cuanto al crecimiento, los resultados del primer experimento pueden verse en la Tabla 2 y Figura 1, que presentan los datos y curvas de incremento de crecimiento de los 5 grupos en peso promedio semanal; estas ilustraciones muestran lo siguiente:

1. Los animales que recibieron la dieta que contenía el ni-

TABLA 2

Incremento de crecimiento, en gramos, del Primer Experimento

Semana	Grupos				
	1	2	3	4	5
1	13	13	9	13	14
2	26	27	21	27	29
3	34	35	32	37	37
4	36	40	38	41	42
5	43	46	45	48	48
6	49	51	49	53	53
7	53	57	56	58	57
8	58	62	61	64	63
9	63	67	66	70	68
10	69	69	71	73	71
11	70	76	75	78	74
12	74	79	80	81	77
13	74	79	79	80	77
14	74	81	80	81	77
15	73	81	81	82	78
16	75	82	82	83	78

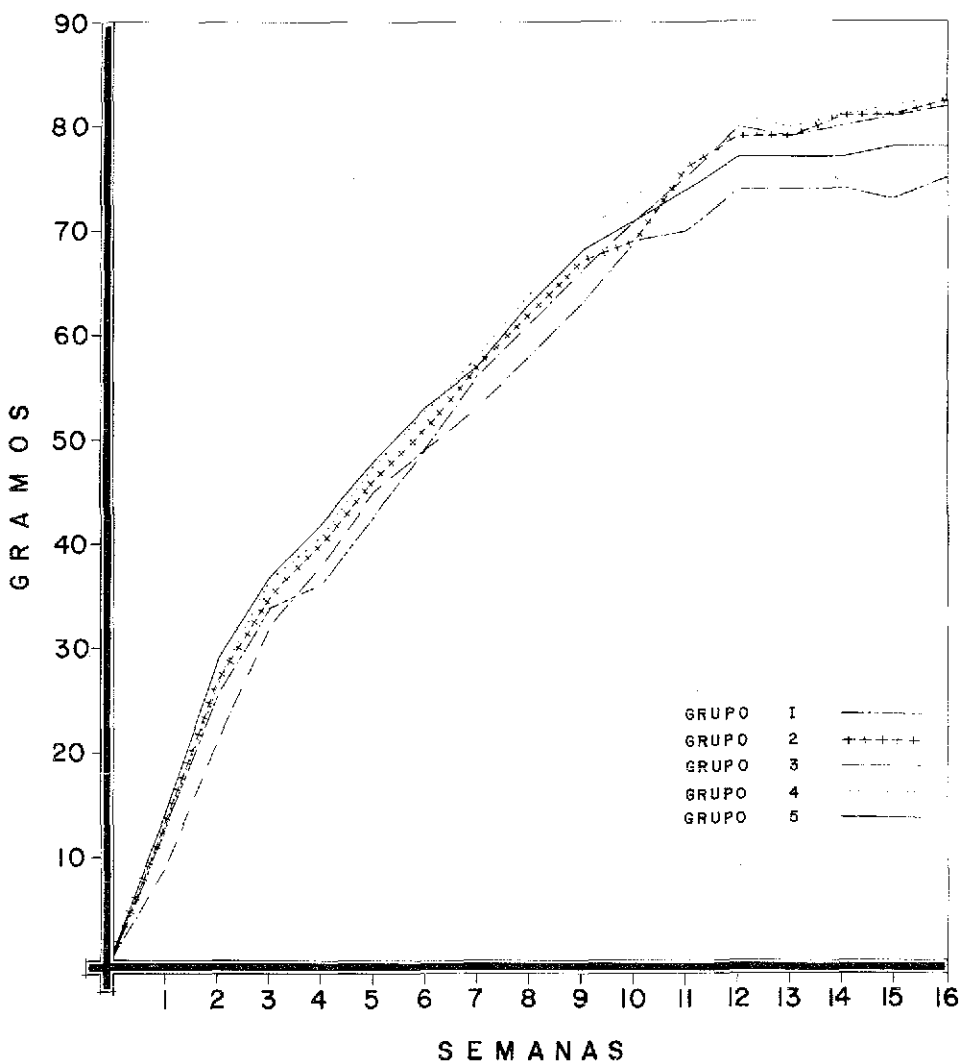


Fig. 1. Curvas de incremento de crecimiento de los 5 grupos del Primer Experimento: Grupo 1, Purina (P) + 15 000 UI% Vitamina A; Grupo 2, P + 10 000 UI% Vitamina A; Grupo 3, P + 5 000 UI% Vitamina A; Grupo 4, P + 2 500 UI% Vitamina A; Grupo 5, P + 1 500 UI% Vitamina A.

vel más elevado de vitamina A (Grupo 1), exhibieron el crecimiento más bajo (incremento final, 75 g).

2. El grupo que recibió la ración básica adicionada del menor nivel de vitamina A (1 500 UI%, Grupo 5) tuvo un crecimiento similar (incremento final, 78 g) al del que recibió el mayor nivel de este factor (Grupo 1), siendo la diferencia sólo de 3 g.

3. Los jánsteres que recibieron los niveles medios de vitamina A (10 000, 5 000 y 2 500 UI%, Grupos 2, 3 y 4), mostraron un crecimiento muy similar entre sí (incrementos finales, 82, 82 y 83 g, respectivamente), el cual fue ligeramente superior al inducido por los niveles mayor (15 000 UI%, Grupo 1) y menor (1 500 UI%, Grupo 5) de vitamina A.

Estos resultados muestran que los niveles medios de vitamina A usados en este experimento produjeron todos esencialmente el mismo crecimiento, el cual fue ligeramente superior al producido por los niveles mayor y menor de esta vitamina.

Ninguno de los animales de este experimento presentó signos clínicos anormales o cambios patológicos macroscópicos a la necropsia.

Segundo Experimento

Los resultados de este experimento, que se presentan en la Tabla 3, son los siguientes:

1. La ración básica de Purina sola (Grupo A) no produjo coleditiasis.
2. La adición de 25% de zanahoria a la Purina (Grupo B) tampoco fue litogénica.
3. La Purina adicionada de 25% de mantequilla (Grupo C) produjo un alto porcentaje de animales con cálculos (56.25%).
4. La adición de 25% de zanahoria a la Purina adicionada de 25% de mantequilla (Grupo D), indujo una alta frecuencia de coleditiasis.

TABLA 3

Frecuencia de cálculos biliares en el Segundo Experimento

GRUPOS Y DIETAS	No. TOTAL DE ANIMALES	No. ANIMALES CON CALCULOS	PORCENTAJE DE ANIMALES CON CALCULOS	PESO PROMEDIO DE LOS CALCULOS EN CADA GRUPO, EN mg
A Purina	16	0	0	0
B 75% Purina + 25% Zanahoria	16	0	0	0
C 75% Purina + 25% Mantequilla	16	9	56.25	0.124
D 50% Purina + 25% Mantequilla + 25% Zanahoria	16	11	68.75	0.412
E 80% Purina + 20% Mantequilla	16	3	18.75	0.233
F 55% Purina + 20% Mantequilla + 25% Zanahoria	16	12	75.00	0.418
G 85% Purina + 15% Mantequilla	16	0	0	0
H 60% Purina + 15% Mantequilla + 25% Zanahoria	15*	6	40.00	0.563
I 90% Purina + 10% Mantequilla	16	1	6.25	0.110
J 65% Purina + 10% Mantequilla + 25% Zanahoria	16	1	6.25	0.080

* De los 16 jámsteres originales de este grupo, murió uno por afecciones espontáneas al comienzo del experimento.

sis (68.75%), la cual fue ligeramente superior a la producida por la Purina y mantequilla solas (Grupo C).

5. La Purina adicionada de 20% de mantequilla (Grupo E), produjo una baja incidencia de colelitiasis (18.75%).

6. La adición de zanahoria a la dieta de Purina y 20% de mantequilla (Grupo F) produjo una alta incidencia de colelitiasis (75.0%), la cual fue muy superior a la producida por la dieta sin zanahoria (Grupo E).

7. La Purina adicionada de 15% de mantequilla (Grupo G) no fue litogénica.

8. La adición de zanahoria a la dieta de Purina y 15% de mantequilla (Grupo H), indujo una frecuencia media de colelitiasis (40.0%), a diferencia de la dieta con 15% de mantequilla y Purina solas que no fue litogénica (Grupo G).

9. La Purina adicionada de 10% de mantequilla (Grupo I), produjo una muy baja incidencia de colelitiasis (6.25%).

10. La adición de zanahoria a la dieta de Purina y 10% de mantequilla (Grupo J), produjo un porcentaje de colelitiasis (6.25%) igual al producido por la dieta sin la adición de zanahoria (Grupo I).

De igual modo, los datos suministrados en la Tabla 2, respecto al peso promedio de los cálculos en cada grupo, muestran que fueron mayores los pesos promedios de los grupos que recibieron las dietas con los niveles de mantequilla de 25, 20 y 15% adicionados de zanahoria (Grupos D, F y H, respectivamente) que los que recibieron las mismas dietas sin zanahoria (Grupos C, E y G). Los animales que recibieron la dieta de Purina adicionada de 10% de mantequilla con y sin zanahoria (Grupos I y J) exhibieron pesos promedio similares entre sí, los cuales fueron apreciablemente inferiores a los de los grupos que

recibieron niveles mayores de mantequilla con y sin zanahoria (Grupos D, E, F, G y H), pero similares al peso promedio de los animales que recibieron Purina con 25% de mantequilla (Grupo C).

Los resultados de este experimento muestran que:

1. La zanahoria a un nivel de 25% en la ración básica no es litogénica;
2. La adición de zanahoria a este mismo nivel potencializa la acción litogénica de la mantequilla adicionada a la Purina a los niveles de 25, 20 y 15%;
3. Esta acción potencializadora de la zanahoria no se observa cuando la dieta litogénica contiene sólo 10% de mantequilla.

La comparación estadística de los resultados respecto al porcentaje de animales con cálculos, muestra que los grupos que no presentaron colelitiasis (Grupos A, B y G) exhibieron diferencias significativas al nivel de 0.01, con los grupos que presentaron altas frecuencias de animales con cálculos (Grupos C, D, F y H), pero no con los que tuvieron bajos porcentajes de colelitiasis (Grupos E, I y J). Asimismo, existieron diferencias significativas entre el grupo que recibió 20% de mantequilla (Grupo E) y el que recibió este mismo nivel de mantequilla más zanahoria (Grupo F); al mismo nivel de significación, también hubo diferencias entre los grupos con 15% de mantequilla sin y con zanahoria (Grupos G y H, respectivamente); sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos que recibieron 25% de mantequilla sin y con zanahoria (Grupos C y D, respectivamente).

Respecto al crecimiento, los resultados del segun-

do experimento pueden verse en la Tabla 4 y Figura 2, que muestran lo siguiente:

1. El grupo que recibió Purina sola (Grupo A) tuvo un crecimiento bajo (incremento final, 66 g), pero ligeramente superior al del grupo con Purina adicionada de zanahoria (Grupo B), el cual exhibió el crecimiento más bajo en este experimento (incremento final, 62 g).

2. Los grupos a los que se les suministró Purina adicionada de 25 y 20% de mantequilla (Grupos C y E, respectivamente) mostraron crecimientos similares entre sí (incrementos finales, 83 y 85 g, respectivamente), los cuales fueron los más altos en este experimento.

3. Los animales que recibieron Purina mezclada con 25% de mantequilla (Grupo C) presentaron un crecimiento alto (incremento final, 83 g), el cual fue superior al del grupo con el mismo nivel de mantequilla y con zanahoria (Grupo D, incremento final 76 g), siendo la diferencia de 7 g.

4. La Purina adicionada de 20% de mantequilla (Grupo E) indujo el más alto crecimiento (incremento final, 85 g), el cual fue muy superior al inducido por la dieta con 20% de mantequilla y con zanahoria (Grupo F, incremento final, 67 g), siendo la diferencia de 18 g.

5. Los jámsteres que recibieron la Purina con 15% de mantequilla (Grupo G) exhibieron un crecimiento alto (incremento final, 79 g), el cual fue superior al de los jámsteres que recibieron Purina y 15% de mantequilla con zanahoria (Grupo H), siendo la diferencia de 6 g.

6. La Purina adicionada de 10% de mantequilla (Gru-

TABLA 4

Incremento de crecimiento, en gramos, del Segundo Experimento

Semana	Grupos									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	0	-1	14	12	13	8	14	7	13	4
2	21	12	34	33	35	30	31	28	34	20
3	32	28	50	49	50	44	54	44	48	37
4	47	41	64	61	62	57	60	59	57	49
5	54	51	70	65	69	60	66	64	62	55
6	60	55	78	72	73	65	73	70	69	61
7	66	62	83	76	85	67	79	73	75	65

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

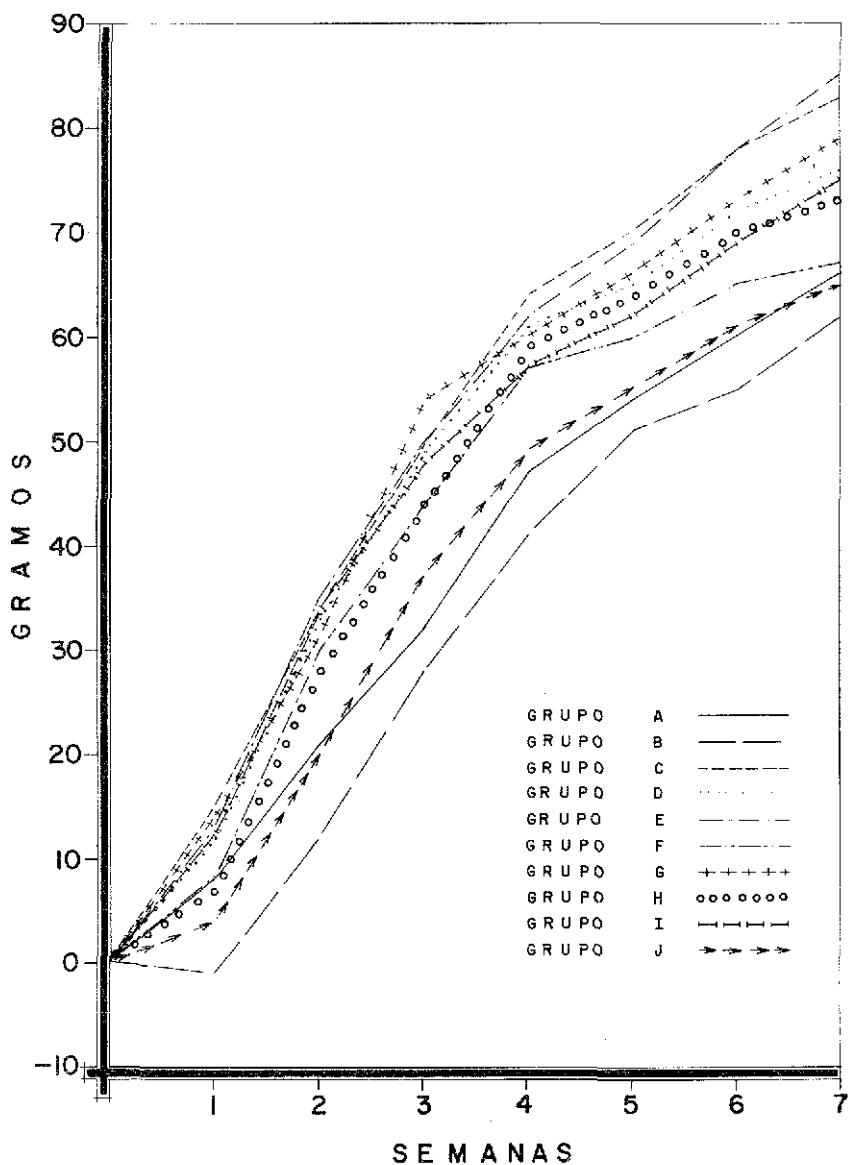


Fig. 2. Curvas de incremento de crecimiento de los grupos del Segundo Experimento: Grupo A, Purina (P); Grupo B, P + 25% Zanahoria (Z); Grupo C, P + 25% Mantequilla (M); Grupo D, P + 25% M + 25% Z; Grupo E, P + 20% M; Grupo F, P + 20% M + 25% Z; Grupo G, P + 15% M; Grupo H, P + 15% M + 25% Z; Grupo I, P + 10% M; Grupo J, P + 10% M + 25% Z.

po I) produjo un crecimiento medio (incremento final, 75 g), el cual fue superior al producido por la Purina y mantequilla con zanahoria (Grupo J, incremento final, 65 g), siendo la diferencia de 10 g.

Los resultados muestran lo siguiente: a) La adición de mantequilla a la Purina induce un crecimiento más alto que la Purina sola; b) La adición de 25% de zanahoria a la Purina sola y con mantequilla a los niveles de 25, 20, 15 y 10%, reduce consistentemente el crecimiento.

Tercer Experimento

Los resultados de este experimento presentados en la Tabla 5, son los siguientes:

1. La dieta básica de Purina sola (Grupo I) no produjo colelitiasis.

2. La adición de 15 000 UI% de vitamina A a la Purina (Grupo II) indujo cálculos en todos los animales (100%).

3. Tres altos niveles de beta-caroteno en forma hidrodispersable adicionados a la Purina (Grupos III, IV y V) no tuvieron acción litogénica.

4. Los grupos que recibieron tres altos niveles de beta-caroteno en suspensión oleosa adicionados a la Purina (Grupos VI, VII y VIII) tampoco exhibieron cálculos.

Los resultados de este experimento muestran que el beta-caroteno tanto en suspensión oleosa como en forma hidrodispersable adicionados a la Purina a altos niveles, no es litogénico.

En lo que se refiere al crecimiento los resultados de este experimento pueden verse en la Tabla 6 y Figura 3,

TABLA 5

Frecuencia de cálculos biliares en el Tercer Experimento

GRUPOS Y DIETAS	No. TOTAL DE ANIMALES	No. ANIMALES CON CALCULOS	PORCENTAJE DE ANIMALES CON CALCULOS
I Purina	19*	0	0
II Purina + 15 000 UI% Vitamina A	20	20	100
III 97.3% Purina + 2.7% B-caroteno hidrodispersable	20	0	0
IV 95.0% Purina + 5.0% B-caroteno hidrodispersable	20	0	0
V 90.0% Purina + 10.0% B-caroteno hidrodispersable	17*	0	0
VI 99.1% Purina + 0.9% B-caroteno suspensión oleosa	20	0	0
VII 98.0% Purina + 2.0% B-caroteno suspensión oleosa	19*	0	0
VIII 96.0% Purina + 4.0% B-caroteno suspensión oleosa	20	0	0

* De los 20 jámsteres originales, de los grupos I y VII murió un animal y del grupo V murieron tres por afecciones espontáneas al comienzo del experimento.

que muestran lo siguiente:

1. La Purina sola (Grupo I) indujo un crecimiento (incremento final, 84 g) prácticamente igual al inducido por la Purina adicionada de 4.0% de beta-caroteno en suspensión oleosa (Grupo VIII, incremento final, 84 g), 0.9% de beta-caroteno también en suspensión oleosa (Grupo VI, incremento final 86 g) y 5.0% de beta-caroteno en forma hidrodispersable (Grupo IV, incremento final 83 g).

2. Los animales que recibieron Purina adiconada de 15 000 UI% de vitamina A (Grupo II) exhibieron el más bajo crecimiento (incremento final, 76 g), el cual fue inferior al mostrado por los animales alimentados con Purina sola (Grupo I, incremento final, 84 g), siendo la doferencia de 8 g.

3. Los grupos que recibieron la Purina mezclada con beta-caroteno en suspensión oleosa al nivel de 2.0% (Grupo VII) y en forma hidrodispersable a los niveles de 2.7 y 10.0% (Grupos III y V, respectivamente), mostraron crecimientos iguales entre sí (incrementos finales, 81, 80 y 80 g, respectivamente), los cuales fueron sólo ligeramente inferiores al presentado por el grupo alimentado con Purina sola (Grupo I, incremento final, 84 g), siendo las diferencias de 3 y 4 g.

Estos resultados muestran que el beta-caroteno, tanto en suspensión oleosa como en forma hidrodispersable, adicionado a la Purina, a altos niveles, produce un crecimiento prácticamente igual al producido por la Purina sola. Por otro lado, ellos también muestran que la vitamina A al

TABLA 6

Incremento de crecimiento, en gramos, del Tercer Experimento

Semana	Grupos							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	15	12	17	17	17	15	18	16
2	27	30	33	33	34	32	35	33
3	41	51	44	44	48	45	43	44
4	51	57	52	53	54	53	52	53
5	61	63	61	62	60	61	62	62
6	72	65	70	71	69	70	71	74
7	79	73	77	81	77	77	79	80
8	81	73	77	81	78	77	80	81
9	84	76	80	83	80	86	81	84

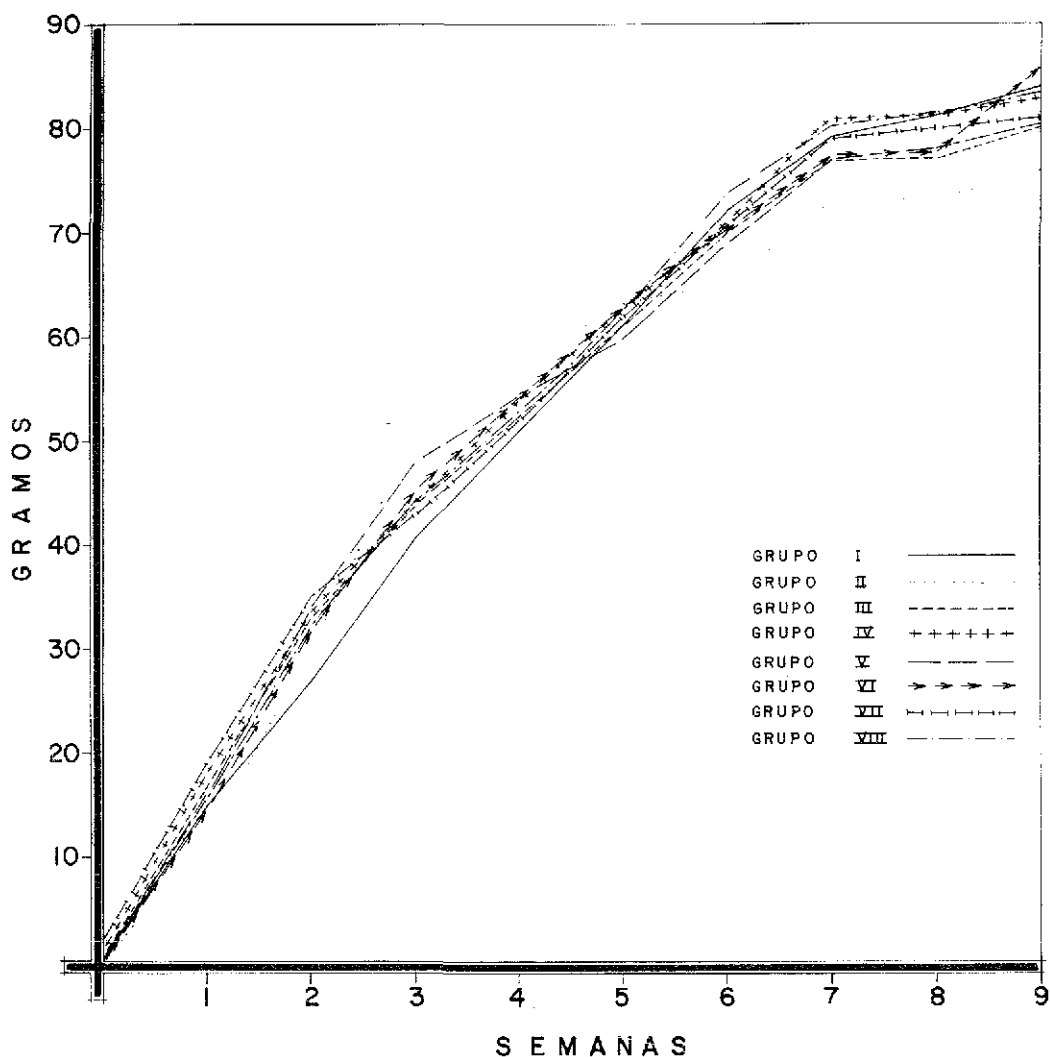


Fig. 3. Curvas de incremento de crecimiento de los 8 grupos del Tercer Experimento: Grupo I, Purina (P); Grupo II, P + 15 000 UI% Vitamina A; Grupo III, P + 2.7% beta-caroteno hidrodispersable; Grupo IV, P + 5.0% beta-caroteno hidrodispersable; Grupo V, P + 10.0% beta-caroteno hidrodispersable; Grupo VI, P + 0.9% beta-caroteno suspensión oleosa; Grupo VII, P + 2.0% beta-caroteno suspensión oleosa; Grupo VIII, P + 4.0% beta-caroteno suspensión oleosa.

nivel de 15 000 UI% en la ración básica, indujo en la última parte del experimento un crecimiento inferior al inducido por la Purina sola.

D) Discusión:

Primer Experimento

Los resultados de este experimento confirman plenamente los obtenidos por nosotros anteriormente (1,83), en cuanto al nivel mayor (15 000 UI%) al cual la vitamina A produce colelitiasis pigmentaria, así como la ausencia de acción litogénica del menor (1 500 UI%) ensayado de esta vitamina. Además, este experimento muestra que la litogenicidad de la vitamina A va disminuyendo progresivamente conforme se reducen los niveles dietéticos de ella, i.e., hay una relación directamente proporcional entre el nivel dietético de esta vitamina y su litogenicidad.

Al discutir el posible o posibles mecanismos patológicos a través de los cuales la vitamina A produce cálculos biliares, el problema se presenta en extremo complejo debido, principalmente a que, por una parte, aún no están bien entendidos los procesos metabólicos normales en los que interviene la vitamina A, y, por otra, aún se están descubriendo nuevos procesos patológicos aparentemente no relacionados debidos a la alta ingestión de esta vitamina, como es el caso de los cálculos biliares mismos.

Por los cambios patológicos a la alta ingestión de vitamina A reportados en la literatura, según la revisión hecha en el presente trabajo, sólo se podría sugerir una acción de esta vitamina que provocara un metabolismo anor-

mal de la bilirrubina y de las sales minerales por alteraciones enzimáticas en el hepatocito, posiblemente a nivel de membrana que condujeran a la formación de una bilis litogénica. Por otra parte, no se puede descartar la posibilidad de que la vitamina A intervenga en la formación de cálculos biliares, en una u otra forma, a nivel de la vesícula biliar.

En toda forma, a través de éste y de nuestros estudios anteriores (1,83) queda sin duda demostrado que la vitamina A a determinados niveles en el jámster dorado, produce cálculos biliares pigmentarios, los cuales pueden ser considerados como una manifestación de hipervitaminosis A, recientemente observada.

De todas maneras, el establecimiento de la acción litogénica de la vitamina A en el jámster dorado a través de estos trabajos, tiene una importancia definida no sólo en el estudio de la patogenia de los cálculos biliares, sino que establece un modelo experimental muy adecuado para que mediante estudios posteriores se llegue a un conocimiento más profundo de las funciones y del metabolismo de esta vitamina.

Por otro lado, el presente experimento también confirma claramente nuestras anteriores observaciones (1,83) en cuanto a la ausencia de signos clínicos y cambios patológicos macroscópicos, a excepción hecha de los cálculos biliares, como evidencia de hipervitaminosis A a los niveles empleados en este estudio, lo cual demuestra una vez más la gran tolerancia del jámster a altas dosis de esta vitamina.

Segundo Experimento

A partir de la observación original realizada por Granados (85) sobre la litogenicidad de la leche y/o la zanahoria, y de sus posteriores observaciones relacionadas con el aumento de cálculos en el jámster cuando se suplementa con zanahoria la dieta litogénica de Purina y Mantequilla (84), se hizo indispensable realizar experimentos que pudiesen en claro la influencia real de la zanahoria en la colelitiasis producida por la mantequilla, para así establecer de manera definida si se trataba de una acción litogénica propia o sólo de una acción potencializadora de este nutrimento vegetal. Los resultados del presente experimento han dilucidado este problema, al demostrar claramente que la zanahoria per se no tiene acción litogénica pero que sí posee una definida acción potencializadora sobre la litogenicidad de la mantequilla.

Para explicar esta acción potencializadora de la zanahoria se pueden sugerir, entre otras, dos posibles explicaciones: 1. Un aumento apreciable de la vitamina A resultante de la conversión in vivo a esta vitamina de los carotenoides contenidos en la zanahoria que fuese capaz de aumentar la litogenicidad de la mantequilla. A este respecto, existe gran disparidad en los datos suministrados por diversos autores sobre el contenido equivalente en vitamina A presente en la zanahoria en forma de carotenoides, siendo el rango de 2 000 a 47 000 UI de vitamina A por 100g de zanahoria (3,86- 89). Así, si la zanahoria usada en nuestros estudios tuviese la capacidad vitamínica de los más altos

niveles citados, sería de esperarse que fuera litogénica per se, lo cual no es el caso; sin embargo, a los niveles inferiores sí podría explicarse así esta acción potencializadora de la zanahoria; 2. Por la presencia en la zanahoria de un factor (factores) desconocidos que interaccione con la mantequilla, aumentando la litogenicidad de ésta. Puesto que la acción potencializadora es muy fuerte a ciertos niveles de mantequilla (20 y 15%) para ser debida al reducido aumento de vitamina A que proporciona, es más probable que exista otro factor (factores) contenido en la zanahoria que sea el causante de la potencialización observada, sin descartar la posibilidad de que la vitamina A formada a partir de los carotenoides de la zanahoria también contribuya en esta acción.

Asímismo, como vimos, el presente experimento mostró que la zanahoria no tiene acción potencializadora cuando se adiciona al nivel más bajo de mantequilla (10%); esto señala que se requiere un nivel mínimo del factor (factores) litogénico contenido en la mantequilla, para que la zanahoria exhiba acción potencializadora.

En cuanto al crecimiento, en la sección de resultados se reportó que la adición de zanahoria tanto a la Purina sola como a ésta mezclada con todos los niveles de mantequilla empleados (25 a 10%) disminuyeron consistentemente el crecimiento, en comparación con los correspondientes grupos que no recibieron la adición de zanahoria; estas diferencias de crecimiento se interpretan como debidas principalmente a la notable disminución de proteína ingerida cuan-

do se reemplaza parcialmente la Purina por la zanahoria, ya que el contenido de proteína de ésta es sólo de 0.4g% (86), mientras que en la Purina el contenido de proteína es de 23.0g%.

Tercer Experimento

Este experimento se realizó teniendo en cuenta que el beta-caroteno, a través de su conversión in vivo en vitamina A, y considerando también su alto contenido en la zanahoria, pudiese exhibir alguna litogenicidad, semejante a la comprobada para la vitamina.

Los resultados de este experimento mostraron que el beta-caroteno a altos niveles, en las dos formas suministradas (suspensión oleosa y forma hidrodispersable) no tuvo ninguna acción litogénica; esto pudo ser debido a que el nivel que se absorbió y transformó en vitamina A en el intestino, no fue suficiente para ser litogénico. Además, la ausencia general de pigmentación amarilla en los tejidos y órganos de los animales que recibieron beta-caroteno, indica que muy probablemente no hubo absorción apreciable de caroteno intacto y por lo tanto tampoco hubo la posibilidad de conversión en otros órganos fuera del intestino. Esto está de acuerdo con lo reportado por varios autores en diversas especies (3,45,68,82), en cuanto al bajo índice de conversión del beta-caroteno en vitamina A y por lo tanto de síntomas de hipervitaminosis A, como consecuencia de la ingestión de altos niveles de este caroteno.

Respecto al crecimiento, también se vio en la sección de resultados que los altos niveles de beta-caroteno suministrados en las dos formas indicadas, no modificaron en ningún sentido el crecimiento de los animales en comparación con los que no recibieron este caroteno.

Esta falta de influencia en el crecimiento unida a la ausencia de cálculos biliares y de pigmentación orgánica en los animales que recibieron estos altos niveles de beta-caroteno, sugieren que esta provitamina en los presentes experimentos en el jámster se absorbió y transformó a un mínimo, no habiendo, por lo tanto, exhibido acción biológica apreciable.

E) Conclusiones:

Las conclusiones básicas de los tres experimentos que conforman el presente estudio sobre colelitiasis pigmentaria en el jámster dorado, pueden resumirse así:

1. La vitamina A per se tiene progresivamente, a determinados niveles, acción colelitogénica en el jámster alimentado con una dieta comercial (Purina).

2. La zanahoria tiene una definida acción potencializadora en la colelitiasis producida por determinados niveles de mantequilla, aunque carece de acción litogénica propia.

3. El beta-caroteno suministrado a altos niveles, tanto en suspensión oleosa como en forma hidrodispersable, no exhibe ninguna acción colelitogénica.

TERCERA PARTE

RESUMEN GENERAL Y BIBLIOGRAFIA

A) Resumen general:

El presente estudio reporta tres experimentos realizados con el objeto de determinar el nivel dietético mínimo de vitamina A que exhibe acción litogénica, la posible acción litogénica o potenciadora de la zanahoria cruda y la posible acción litogénica del beta-caroteno. Este estudio consta de las siguientes partes:

Primera Parte: esta parte consiste de dos secciones la primera contiene una revisión de los conocimientos actuales sobre la historia, química, fisiología y deficiencia de vitamina A, así como las manifestaciones de hipervitaminosis producidas por este factor. La segunda sección comprende una revisión histórica, química, distribución y funciones de los carotenoides en general, y revisa también el metabolismo en los animales de los carotenoides que pueden ser convertidos en vitamina A.

Segunda Parte: corresponde a la sección experimental la cual comprende los objetivos, material y métodos, resultados, discusión y conclusiones de los tres experimentos que reporta este estudio. En los tres experimentos se utilizaron jánsteres dorados machos de la cepa ChCM recién destetados, alimentados con la ración básica Purina Rodent

Laboratory Chow 5001 (Purina), a la cual se le hicieron diversas adiciones.

En el primer experimento se estudiaron diferentes niveles de vitamina A para establecer el mínimo nivel litogénico: se montaron 5 grupos de 14 animales cada uno, los cuales fueron alimentados durante 114 días experimentales con la ración básica a la cual se le agregaron las adiciones siguientes:

Grupo 1, Purina + 15 000 UI% de vitamina A (acetato de vitamina A); Grupo 2, Purina + 10 000 UI% de vitamina A; Grupo 3, Purina + 5 000 UI% de vitamina A; Grupo 4, Purina + 2 500 UI% de vitamina A; Grupo 5, Purina + 1 500 UI% de vitamina A. Este experimento se llevó a cabo entre agosto y noviembre de 1978. Los resultados de este experimento mostraron que la vitamina A a los niveles de 15 000 y 10 000 UI% adicionada a la dieta básica, produce una alta frecuencia de animales con cálculos, la cual va disminuyendo conforme se reduce el nivel de esta vitamina en la dieta, hasta que al nivel de 1 500 UI% la vitamina A no tiene acción litogénica.

En el segundo experimento se puso a prueba la posible acción litogénica o potencializadora de la zanahoria sobre la acción litogénica de la mantequilla: se establecieron 10 grupos de 16 animales cada uno, los cuales fueron alimentados durante 50 días experimentales con la misma ración básica a la cual se le agregaron las siguientes adiciones:

Grupo A, Purina sola; Grupo B, 75% Purina + 25% zanahoria; Grupo C, 75% Purina + 25% mantequilla; Grupo D, 50% Purina + 25% mantequilla + 25% zanahoria; Grupo E, 80% Purina + 20% mantequilla; Grupo F, 55% Purina + 20% mantequilla + 25% zanahoria; Grupo G, 85% Purina + 15% mantequilla; Grupo H, 60% Purina + 15% mantequilla + 25% zanahoria; Grupo I, 90% Purina + 10% mantequilla; Grupo J, 65% Purina + 10% mantequilla +

25% zanahoria. Este experimento se llevó a cabo entre enero y febrero de 1979. Los resultados de este experimento señalaron que la zanahoria a un nivel de 25% en la ración básica no es litogénica, pero sí potencializa la acción litogénica de la manteguilla cuando ésta se adiciona a la Purina a los niveles de 25, 20 y 15%; sin embargo, no se observa acción potencializadora de la zanahoria cuando la dieta litogénica contiene sólo 10% de manteguilla.

El tercer experimento se realizó para probar la posible acción litogénica del beta-caroteno: se formaron 8 grupos de 20 animales cada uno, los cuales fueron alimentados durante 68 días experimentales con la misma ración básica, a la cual se le agregaron las adiciones siguientes:

Grupo I, Purina sola; Grupo II, Purina + 15 000 UI% de vitamina A (acetato de vitamina A); Grupo III, 97.3% de Purina + 2.7% beta-caroteno hidrodispersable (polvo granulado con 10% de beta-caroteno); Grupo IV, 95% Purina + 5.0% beta-caroteno hidrodispersable; Grupo V, 90.0% Purina + 10.0% beta-caroteno hidrodispersable; Grupo VI, 99.1% Purina + 0.9% beta-caroteno en suspensión oleosa (suspensión con 30% de beta-caroteno microcristalizado); Grupo VII, 98.0% Purina + 2.0% beta-caroteno en suspensión oleosa; Grupo VIII, 96.0% Purina + 4.0% beta-caroteno en suspensión oleosa. Este experimento se realizó entre febrero y abril de 1979. Los resultados de este experimento mostraron que el beta-caroteno usado en forma hidrodispersable y en suspensión oleosa adicionado a la Purina a altos niveles, no tiene acción litogénica.

Los resultados de los tres experimentos, que incluyen su análisis estadístico en cuanto a la colelitiasis, también reportan los estudios sobre el crecimiento de los diferentes grupos. Además, se discutieron varios aspectos de los problemas planteados por los resulta-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

dos de estos experimentos.

De este estudio se concluye lo siguiente: 1. La vitamina A per se tiene progresivamente, a determinados niveles acción colelitogénica pigmentaria en el jánster dorado alimentado con una dieta comercial (Purina); 2. La zanahoria tiene una definida acción potencializadora en la colelitiasis pigmentaria producida por determinados niveles de mantequilla, aunque carece de acción litogénica propia; 3. El beta-caroteno a altos niveles, tanto en suspensión oleosa como en forma hidrodispersable, carece de acción colelitogénica.

B) Bibliografía:

1. Cárdenas, R.: Estudio sobre la acción colelitogénica pigmentaria de la vitamina A en el jámster dorado. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, U.N.A.M., 1978.
2. Pike, R. L. y Brown, M.L.: Nutrition an integrated approach. John Wiley & Sons, Inc., 1975.
3. Wohl, M.G. y Goodhart, R. S.: Modern nutrition in health and disease. Lea & Febiger, Filadelfia, 1968.
4. Dam, H.: The biochemistry of fat-soluble vitamins. En: Progress in the chemistry of fat and other lipids. Pergamon Press Limited, Londres, 1955.
5. Pitt, G.A.J.: X. Vitamin A. En: Carotenoids (ed. Otto Isler). Birkhauser Verlag Basel, 1971.
6. Lehninger, A.L.: Bioquímica. Ed. Omega, S.A., Barcelona, 1972.
7. Pitt, G.A.J.: The biochemistry of the visual cycle. Biochemical Society Transaction 551st Meeting, St. Andrews, 2: 1220-1224, 1974.
8. Smith, J.E. y Goodman, D.S.: Metabolismo y transporte de vitamina A. En: Conocimientos actuales de nutrición. Inst. Nutr. Centro Amer. Panamá, Guatemala, 1978.
9. De Luca, L.M.: The direc involvement of vitamin A in glycosyl transfer reactions of mammalian membranes. Vitam. Horm., 35: 1-57, 1977.
10. Morley, J.E., Damassa, D.A., Gordon, J., Pekary, A.E. y Hershman, J.M.: Thyroid function and vitamin A deficiency. Life Sci.: 22: 1901-1906, 1978.
11. Nutrition Reviews: Vitamin A and thyroid, 37: 90-91, 1979.
12. Ganguly, J.: Absorption of vitamin A. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 923-933, 1969.
13. Olson, J.A.: The metabolism of vitamin A. Pharmacol. Rev., 19: 559-596, 1967.
14. Ames, S.R.: Factors affecting absorption, transport and storage of vitamin A. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 934-935, 1969.
15. Goodman, D.S.: Retinol transport in human plasma. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 911-912, 1969.
16. Kanai, M. et al: The transport protein for vitamin A in human plasma. J. Clin. Invest., 47: 2036-2055, 1968.

17. Nutrition Reviews: Cellular retinol and retinoic acid binding proteins, 35: 146-148, 1977.
18. Nutrition Reviews: A cell-surface receptor for plasma retinol-binding protein on pigment epithelium and intestinal mucosal cells. 35: 220-222, 1977.
19. Nutrition Reviews: Retinol binding protein in man and rat. 35: 253-254, 1977.
20. Nutrition Reviews: Vitamin A and retinol binding protein in fetal growth and development of the rat. 35: 305-309, 1977.
21. White, G.H., Weston, S.M. y Glover, J.: Carboxy-terminal sequence of retinol-binding protein from human plasma. *Febs Lett.*, 27: 107-110, 1972.
22. Glover, J., Jay, C., Kershaw, R.C. y Reilly, P.E.B.: Seasonal changes in the plasma retinol-binding holoprotein concentration of sheep. *Br. J. Nutr.*, 36: 137-141, 1976.
23. Goodman, D.S.: Vitamin A transport and retinol binding protein metabolism. *Vitam. Horm.*, 32: 167-180, 1974.
24. Muto, Y., Smith, F.R. y Goodman, D.S.: Comparative studies of retinol transport in plasma. *J. Lipid Res.*, 14: 525-532, 1973.
25. Shidoji, Y. y Muto, Y.: Vitamin A transport in plasma of the non-mammalian vertebrates: isolation and partial characterization of piscine retinol-binding protein. *J. Lipid Res.*, 18: 679-691, 1977.
26. Muhilal, H. y Glover, J.: Effects of dietary deficiencies of protein and retinol on the plasma level of retinol-binding protein in the rat. *Br. J. Nutr.*, 32: 549-558, 1974.
27. Glover, J. y Muhilal, H.: Nutritional factors affecting the biosynthesis of retinol-binding protein in the liver and its release into plasma. *Internat. J. Vitamin. Nutr. Res.*, 46: 239-243, 1976.
28. Venkataswamy, G., Glover, J., Cobby, M. y Pirie, A.: Retinol-binding protein in serum of xerophthalmic, malnourished children before and after treatment at a nutrition center. *Am. J. Clin. Nutr.*, 30: 1968-1973, 1977.
29. Smith, J.C., Brow, F.D., McDaniel, E.G. y Chan, W.: Alterations in vitamin A metabolism during zinc deficiency and

- food and growth restriction. *J. Nutr.*, 106: 569-574, 1976.
30. Carney, S.M., Underwood, B.A. y Loerch, J.D.: Effects of zinc and vitamin A deficient diets on the hepatic mobilization and urinary excretion of vitamin A in rats. *J. Nutr.*, 106: 1773- 1781, 1976.
 31. Duncan, J.R. y Hurley, L.S.: An interaction between zinc and vitamin A in pregnant and fetal rats. *J. Nutr.*, 108: 1431-1438, 1978.
 32. Wolf, G.: Retinol-linked sugar in glycoproteins synthesis. *Nutr. Rev.*, 35: 97-99, 1977.
 33. Juneja, H.S., Murthy, S.K. y Ganguly, J.: The effect of vitamin A deficiency on the biosynthesis of steroid hormones in rats. *Biochem. J.*, 99: 138-145, 1966.
 34. F. Hoffmann-La Roche & Cia.: Compendio de vitaminas. Basilea, 1972.
 35. Oomen, H.A.P.C.: Vitamin A deficiency, xerophthalmia and blindness. En: *Present Knowledge in Nutrition. The Nutrition Foundation Inc.*, New York, pp. 64-72, 1976.
 36. Patwardhan, V.N.: Hypovitaminosis A and epidemiology of xerophthalmia. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 22: 1106-1118, 1969.
 37. Mejjia, L.A., Hodges, R.E. y Bucker, R.B.: Role of vitamin A in the absorption, retention and distribution of iron in the rat. *J. Nutr.*, 109: 129-137, 1979.
 38. *Nutrition Reviews: Vitamin A deficiency and anemia.* 37: 38-40, 1979.
 39. Saffiotti, V.: Role of vitamin A in carcinogenesis. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 22: 1088, 1969.
 40. Sporn, M.B.: Retinoids and carcinogenesis. *Nutrition Reviews*, 35: 65-69, 1977.
 41. Sporn, M.B., Squire, R.A., Brown, Ch. C. y Smith, J.M.: Beta-cis retinoic acid: inhibition of bladder carcinogenesis in the rat. *Sci.*, 195: 487-489, 1977.
 42. Rodahl, K. y Moore, T: The vitamin A content and toxicity of bear and seal liver. *Biochem. J.*, 37: 166-168, 1943.
 43. Di Palma, J.R. y Ritchie, D.M.: Vitamin toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17: 133-148, 1977.
 44. Knudson, A.G. y Rothman, P.E.: Hypervitaminosis A. *Am. J. Dis. Child.* 85: 316-334, 1953.

45. Hayes, R.C. y Mark, D.H.: Toxicity of the vitamins. En: Toxicants occurring naturally in foods. Nat. Acad. Sci., Washington, 1973.
46. Hatchcock, J.N.: Nutrition, toxicology and pharmacology. Nutrition Reviews, 34: 65-70, 1976.
47. Eaton, H.D.: Chronic bovine hypo- and hypervitaminosis A and cerebrospinal fluid pressure. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 1070-1080, 1969.
48. Russell, R.M., Boyer, J.L., Bagheri, S.A. y Hruban, Z.: Hepatic injury from chronic hypervitaminosis A resulting in portal hypertension and ascites. New England J. Med. 291: 435-440, 1974.
49. American Academy of Pediatrics: The use and abuse of vitamin A. Pediatrics, 48: 655-656, 1971.
50. Nutrition Reviews: The effect of oral contraceptive agents on plasma vitamin A in the human and the rat. 35: 245-248, 1977.
51. Hafez, E.S. y Dyer, I.A.: Animal growth and nutrition. Lea & Febiger, Filadelfia, 1969.
52. Mock, D. y Main, J.H.P.: The effect of vitamin A on hamster cheek pouch mucosa in organ culture. J. Dent. Res., 58: 635-637, 1979.
53. Moore, T. y Wang, Y.L.: Hypervitaminosis A. Biochem. J., 39: 222-228, 1945.
54. Moore, T.: Imbalance of fat-soluble vitamins. Brit. J. Nutr., 2: 407-410, 1949.
55. Robens, J.F.: Teratogenic effect of hypervitaminosis A in the hamster and the guinea pig. Toxicol. Applaid Pharmacology, 16: 88-99, 1970.
56. Dileepan, K.N., Singh, V.N. y Ramachandran, C.K.: Early effects of hypervitaminosis A on gluconeogenic activity and amino acid metabolizing enzymes of rat liver. J. Nutr., 107: 1809-1815, 1977.
57. Singh, V.N., Singh, M. y Dileepan, K.N.: Early effects of vitamin A toxicity on hepatic glycolysis in rat. J. Nutr., 108: 1959-1962, 1978.
58. Dingle, J.T., Glauert, A.M., Daniel, M. y Lucy, J.A.: Vitamin A and membrane systems.1. The action of the vitamin A

- on the membranes of cells and intracellular particles. *Biochem. J.*, 84: 76 pp, 1962.
59. Lucy, J.A. y Dingle, J.T.: Vitamin A and membrane systems.2. Membrane stability and protein-vitamin A-lipid interactions. *Biochem. J.*, 84: 76 pp, 1962.
60. Dingle, J.T. y Lucy, J.A.: Vitamin A, carotenoids and cell function. *Biol. Rev.*, 40: 422-461, 1965.
61. Roels, O.A., Anderson, O.R., Lui, N.S.T., Shah, D.O. y Truot, M.E.: Vitamin A and membranes. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 22: 1020-1032, 1969.
62. Mallia, A.K., Smith, J.E. y Goodman, D.S.: Metabolism of retinol binding protein and vitamin A during hypervitaminosis A in the rat. *J. Lipid Res.*, 16: 180-188, 1975.
63. Karrer, P. y Jucker, E.: Carotenoids. Elsevier Publishing Co., New York, 1950.
64. Isler, O. en: Carotenoids (ed. Otto Isler). Birkhauser Verlag Basel, 1971.
65. Weedon, B.C.L. en: Carotenoids (ed. Otto Isler). Birkhauser Verlag Basel, 1971.
66. Olson, J.A.: The biosynthesis and metabolism of carotenoids and retinol. *J. Lipid Res.*, 5: 281-298, 1964.
67. Braithwaite, G.D. y Goodwin, T.W.: Studies in carotenogenesis.26. The incorporation of ^{14}C acetate, ^{14}C mevalonate and $^{14}\text{CO}_2$ into beta-carotene by the fungus Phycomyces blakesleeanus. *Biochem. J.*, 76: 5-8, 1960.
68. Thommen, H. en: Carotenoids (ed. Otto Isler). Birkhauser Verlag Basel, 1971.
69. Krinsky, N.I. en: Carotenoids (ed. Otto Isler). Birkhauser Verlag Basel, 1971.
70. Goodwin, T.W.: Algal carotenoids. En: Aspects of terpenoids chemistry and biochemistry. Academic Press, New York, 1971.
71. Mathews-Roth, M.M., Hummel, D. y Crean, C.: The carotenoid content of various organs of animals administered large amounts of beta-carotene. *Nutr. Reps. Int.*, 16: 419-423, 1977.
72. Mathews-Roth, M.M., Crean, C. y Clancy, M.: The phytoene content of various organs of animals administered large dosis of phytoene. *Nutr. Reps. Int.*, 17: 581-584, 1978.
73. Karnaukhov, V.N.: Distribution of carotenoids in tissues of alpine

- rodents. Biol. Abstracts, 63: 4484-4485 (resumen No. 45568), 1977.
74. Bauernfeind, J.C., Brubacher, G.B., Klaui, H.M. y Marusich, W.L.: Use of carotenoids. En: Carotenoids (ed. Otto Isler). Birkhauser Verlag Basel, 1971.
75. Olson, J.A.: The conversion of radioactive beta-carotene into vitamin A by the rat intestine in vivo. J. Biol. Chem., 236: 349-356, 1961.
76. Zachman, R.D. y Olson, J.A.: The uptake of C¹⁴-beta-carotene and its conversion to retinol ester by the isolated perfused rat liver. J. Biol. Chem., 238: 541-546, 1963.
77. Olson, J.A.: The alpha and the omega of vitamin A metabolism. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 953-962, 1969.
78. Glover, J. y Redfearn, E.R.: The mechanism of the transformation of beta-carotene into vitamin A in vivo. Biochem. J., 58: 15 pp, 1954.
79. Sharma, R.V., Mathur, S.N., Dmitrovskii, A.A., Das, R.C. y Ganguly, J.: Studies on the metabolism of beta-carotene and apo-beta-carotenoids in rats and chickens. Biochem. Biophys. Acta, 486: 183-194, 1977.
80. Fidge, N.H. y Goodman, D.S.: The enzymatic reduction of retinal to retinol in rat intestine. J. Biol. Chem., 243: 4372-4379, 1968.
81. Olson, J.A.: The effect of bile and bile salts on the uptake and cleavage of beta-carotene into retinol ester by intestinal slices. J. Lipid Res., 5: 402-406, 1964.
82. Bagdon, R.E.: Studies on the toxicity and metabolism of beta-apo-8'-carotenal in dogs. Toxicol. Appl. Pharm., 4: 444-456, 1962.
83. Granados, H, Cárdenas, R. y Soriano, M.: Cálculos biliares en el jámster dorado. XV. Acción litogénica de la vitamina A. XIII Congr. Latinoamer. Cien. Fisiol., y XX Congr. Nal. Cien. Fisiol., México, D.F., Resúmenes de Comunicaciones, p. 173, 1977.
84. Granados, H.: Estudios no publicados.
85. Granados, H.: Gallstones in the golden hamster. IV. The effect of supplementing a stock commercial ration with milk and carrots. XXVI Internat. Congr. Physiol. Sci., New

Delhi, Abstracts of Volunteer Papers (Vol. XI), abstract 285, p. 95, 1974.

86. Hernandez, M., Chavez, A., Bourges, H. y Mendoza, E.: Valor nutritivo de los alimentos. División de Nutrición del Instituto Nacional de la Nutrición, México, D.F., 1971.
87. Kutsky, R.J.: Handboor of vitamins and hormones. Van Nostrand Reinhold Co., New York, 1973.
88. Bogert, L.J., Briggs, G.M. y Calloway, D.H.: Nutrition and physical fitness. W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1966.
89. Booth, V.H. y Dark, S.: The influence of enviroment and maturity on the total carotinoids in carrots. J. Agr. Sci., 39: 226-236, 1949.