



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**EFFECTO CLINICO PATOLOGICO DE LA ADMINISTRACION
DE DOSIS ELEVADAS DE VITAMINA D³ EN
POLLOS WHITE LEGHORN.**

T E S I S

Que para obtener el titulo de :

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

BERTHA GUADALUPE PEREZ CASTELAN

ASESORES:

M.V.Z., Ms., Ph. D. Armando Antillón Rionda

M.V.Z., Ms. Ernesto Avila González

M.V.Z., Ms. Hedberto Ruiz Skewes

MEXICO, D. F.

8323

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

R E S U M E N

Ciento cincuenta pollitos White Leghorn de cuatro-semanas de edad, fueron pesados individualmente y, posteriormente, separados en cuatro grupos experimentales asignados a dietas que contenían dos niveles de calcio (0.92 y 0.62 por ciento) y dos niveles de vitamina D_3 (20,500 y 205,000 UI por Kg de alimento), manteniéndose un quinto grupo (control), que fue alimentado con una dieta con niveles de calcio y vitamina D_3 adecuados, según las recomendaciones del NRC (1977). La duración del experimento fue de 31 días.

Los criterios de evaluación fueron: consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia. Se colectaron muestras de sangre para análisis de calcio y fósforo séricos; se hizo observación clínica durante todo el periodo experimental. Muestras de tibia, riñón, miocardio, arterias y músculo fueron fijadas en formal para estudio histopatológico.

En los lotes que consumieron dietas altas en vitamina D_3 se notó un aumento en los niveles de calcio sanguíneo. En los lotes que consumieron el nivel más elevado de vitamina D_3 y calcio a nivel subóptimo se apreció hiperfosfatemia, lo que se supone se debió al efecto tóxico de la vitamina D_3 .

La ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia se vieron afectadas severamente en los lotes que consumieron los niveles más elevados de vitamina

D₃, siendo más marcado en aquellos que consumieron una dieta con calcio a nivel subóptimo.

Durante el periodo experimental, las aves que consumieron la dosis más elevada de vitamina D₃, mostraron cambios en su comportamiento, caracterizados por decaimiento, anorexia, y reducida actividad en comparación con las aves del grupo control, siendo más notorios estos signos en los lotes que consumieron el nivel más bajo de calcio.

Al examen histológico, en los lotes alimentados con 205,000 UI de vitamina D₃ por Kg de alimento se observaron lesiones de calcificación en los tejidos blandos, siendo el riñón el primer tejido afectado. En el tejido óseo se observó un efecto depresivo en los osteoblastos y en las células cartilaginosas de la metafisis; también los osteocitos se vieron contraídos y deformes, lo que indicó una disminución en el proceso de resorción del tejido óseo.

Las aves que consumieron la dieta con el nivel de 20,500 UI de vitamina D₃ por Kg de alimento, no mostraron sufrir efectos tóxicos, notándose en ellas aceptables ganancias de peso y conversión alimenticia.

Se concluye que un nivel elevado de vitamina D₃ --- (205,000 UI por Kg de alimento), puede causar signos de toxicidad, siendo éstos más claros cuando la dieta contiene niveles de calcio inferiores al requerimiento. Sin embargo niveles de 20,500 UI por Kg de alimento, no ejercieron efecto tóxico en el pollito joven, sin importar el nivel dietético de calcio.

C O N T E N I D O

	Pág.
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS	12
RESULTADOS	16
DISCUSION.	23
CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	43
APENDICE	1

LISTA DE CUADROS, GRAFICAS Y FIGURAS

	Pág.
CUADROS:	
1.- Metabolismo de la vitamina D ₃	29
2.- Composición de las dietas basales empleadas	30
3.- Diseño de tratamientos empleados	31
4.- Rendimiento de pollos alimentados con niveles elevados de vitamina D ₃ del día 28 al 59 de vida.	32
5.- Resultados obtenidos en los niveles séricos de calcio y fósforo en pollos alimentados con niveles elevados de vitamina D ₃ del día 28 al día 59 de edad.	33
6.- Análisis de varianza para consumo de alimento.	II
7.- Análisis de varianza para ganancia de peso.	III
8.- Análisis de varianza para conversión alimenticia.	IV
9.- Análisis de varianza para niveles séricos de calcio	V
10.- Análisis de varianza para niveles séricos de fósforo.	VI
 GRAFICAS:	
1.- Influencia de niveles elevados de vitamina D ₃ sobre la ganancia de peso en pollos en crecimiento.	34
2.- Efecto de niveles elevados de vitamina D ₃ sobre el consumo de alimento en pollos en crecimiento.	35
3.- Efecto de niveles elevados de vitamina D ₃ sobre la conversión alimenticia de pollos en crecimiento.	36
4.- Efecto de dosis elevadas de vitamina D ₃ sobre niveles de calcio sérico en pollos en -	

crecimiento.	37
5.- Efecto de niveles elevados de vitamina D ₃ - sobre el fósforo sérico en pollos en creci- miento.	38

FIGURAS:

1.- Riñón, grupo 5, diez días de experimento.	39
2.- Riñón, grupo 3, 20 días de experimento.	39
3.- Riñón, grupo 3, diez días de experimento.	40
4.- Arteria aorta, grupo control, 10 días.	40
5.- Arteria aorta, grupo 3, 20 días experimento	41
6.- Arteriola del miocardio, grupo 3, 20 días.	41
7.- Tibia proximal, grupo control 10 días.	42
8.- Tibia proximal, grupo 5, 10 días.	42

INTRODUCCION

La vitamina D, llamada así por Mc Collum en 1925, - es el nombre que se utiliza para designar a un grupo de derivados liposolubles del esterol, los cuales actúan en el tratamiento y prevención del raquitismo. Esta función había sido previamente observada por Mellanby en 1919 (60) - al prevenir o curar el raquitismo en forma natural por medio de la exposición de la piel a la acción de los rayos - solares, o artificialmente con los rayos ultravioleta (37, 45,58).

El factor antiraquítico no sólo está presente en la piel, sino también en el tejido adiposo, y en ciertos alimentos en forma de provitamina, la cual, por acción de los rayos ultravioleta es transformada en vitamina D por el organismo.

Existen aproximadamente diez compuestos, que por -- irradiación, dan lugar a formas activas de la vitamina D.- Sin embargo, los más estudiados son la vitamina D₂ (ergo - calciferol) y la vitamina D₃ (colecalfiferol), y sus pre - cursores el ergosterol y el 7-dihidrocolesterol respectivamente. El ergocalciferol se encuentra presente en productos vegetales, mientras que el colecalfiferol se encuentra en productos de origen animal. El 7-dihidrocolecalfiferol se deriva del colesterol o del escualeno, presentes en -- grandes cantidades en el organismo, principalmente en la - piel, intestino y otros organos (63).

Metabolismo de la vitamina D.-

Existe todavía bastante controversia sobre el hecho de considerar a la vitamina D como una vitamina per se en el estricto sentido de la palabra, o como una hormona, ya que, como ha puntualizado Kodiceck (52), puede ser producida por un órgano (piel), y pasar por una serie de cambios bioquímicos a sus órganos de acción metabólica (intestino, piel, tejido óseo), donde ejerce su efecto. A su vez, la síntesis de la vitamina es controlada y regulada en el riñón, según las necesidades de calcio sanguíneo.

Una vez que la vitamina D ha sido absorbida en la ingesta, o producida en la piel en respuesta a los rayos ultravioleta, es transportada por el torrente circulatorio al hígado, donde se hidroxila transformándose en 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D_3); así, hidroxilada, pasa al riñón, donde sufre un nuevo proceso de hidroxilación en el grupo 1-OH, transformándose en la forma metabólica activa de la vitamina o 1,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25\text{-OH-D}_3$) (Cuadro 1).

Cuando existen niveles adecuados en calcio sanguíneo, la formación de $1,25\text{-OH-D}_3$ disminuye en forma considerable, lo cual permite la formación de otros metabolitos como el $24,25\text{-OH-D}_3$ y el $25,26\text{-OH-D}_3$, ambos de baja actividad metabólica (75).

El $1,25\text{-OH-D}_3$, como forma activa de la vitamina, --

tiene una acción directa sobre los sistemas que responden a la vitamina D, incluyendo la absorción intestinal del -- calcio (43,63,55), la movilización del calcio de los huesos (73) y la elevación del fosfato sérico (74). Dicha formación del $1,25\text{-OH-D}_3$ es regulada en forma directa o indirecta por la concentración sérica del Ca^{++} , el fósforo y la hormona paratiroidea.

Funciones de la vitamina D.-

a) Absorción del calcio intestinal.-

Existe evidencia científica de que el calcio es -- absorbido a través de un proceso de transporte activo transcelular (55,80). Sin embargo, todavía existen dudas acerca del mecanismo de transporte del calcio al través de la célula epitelial, hasta llegar al torrente circulatorio.

Una respuesta lógica a este fenómeno es la presencia de una molécula transportadora denominada "proteína fijadora del calcio", la cual requiere de vitamina D para su formación (81), y está presente en el encéfalo, riñón, -- glándula casearógena, e intestino delgado (23,76,77).

La vitamina D no solamente influye en la formación de la "proteína fijadora del calcio", sino también sobre la formación de la fosfatasa alcalina y la adenosina trifosfatasa cálcica, como ha sido demostrado al añadir vitamina D en niveles terapéuticos a pollos raquíuticos (56, -- 59).

b) Resorción del tejido óseo.-

La presencia de pequeñas cantidades de vitamina D es suficiente para estimular la movilización del calcio en el tejido óseo calcificado, en acción conjunta con la hormona paratiroidea (79).

Hallazgos recientes indican que la vitamina D induce la formación de una proteína, la cual produce resorción en el tejido óseo. Esto ha sido demostrado al bloquear la Actinomicina D, que inhibe el proceso de transcripción y por ende la síntesis de proteína (28,75,85,86).

c) Reabsorción tubular.-

Es bien conocido el papel que tiene la vitamina D sobre la reabsorción tubular renal. En experimentos realizados con perros tiroparatiroidectomizados, se ha demostrado que al proporcionar la vitamina D y el 25-OH-D₃ en dosis fisiológicas, se incrementa la reabsorción tubular del fosfato, calcio y sodio (64,65).

Como puede verse, es muy importante el papel fisiológico que tiene la vitamina D en la conservación de los niveles adecuados de Ca⁺⁺ sérico. Sin embargo, esta función no es exclusiva de la vitamina D, ya que tanto la hormona paratiroidea como la calcitonina intervienen también de manera determinante.

d) Hormona paratiroidea (PTH).

Su función principal es la de mantener y regular el

nivel de calcio en los líquidos corporales, siendo esta actividad primordialmente controlada por la concentración de calcio sérico.

En el tejido óseo, la función primordial de la vitamina D es la de promover su resorción. Este mecanismo no está perfectamente esclarecido, sin embargo, la información científica parece señalar que son los osteocitos los principales promotores de la resorción ósea (3,4,6), lo que va en desacuerdo con el concepto clásico de la resorción por osteoclasia (36).

En el riñón, la hormona paratiroidea actúa produciendo un rápido aumento en la excreción urinaria del fosfato, y una disminución en el calcio (7,84).

Existe todavía controversia sobre el papel que puede tener la hormona paratiroidea como reguladora en la formación de metabolitos de la vitamina D en el organismo. Se ha sugerido que su presencia es indispensable para la formación de $1,25\text{-OH-D}_3$ (30,33), la hipofosfatermia por sí misma puede (sin aumento de PTH) estimular la síntesis de $1,25\text{-OH-D}_3$. Sin embargo, los resultados obtenidos por otros investigadores (32), sugieren que en casos de hipovitaminosis D, ni la PTH, ni la calcitonina son indispensables para mantener constante la actividad de la hidroxilasa 1.

e) Calcitonina.-

Durante muchos años se pensó que la hormona parati-

roidea (PTH) era la única responsable de la regulación del calcio sanguíneo, y que estas correcciones metabólicas podían ser rápidamente ajustadas en presencia de diferentes niveles (elevados o bajos) de calcio en la dieta. Lo fue sino hasta 1962 en que se dió a conocer la existencia de un factor hipocalcemiante, el cual era liberado durante la perfusión de las glándulas tiroideas y paratiroides en una solución rica en calcio (16).

Experimentos posteriores demostraron que la calcitonina, en mamíferos, se produce en grandes cantidades únicamente en las glándulas paratiroides, especialmente en las "células C" (8,10,11,29). En las aves, estas células se encuentran agrupadas en pequeñas glándulas situadas en la base del cuello, que se denominan cuerpos ultimobraquiales y, que no presentan relación embriológica con las glándulas tiroideas en lo absoluto (16,17).

En mamíferos, calcitonina produce hipocalcemia al disminuir el índice de osteolisis osteocítica y, por lo tanto, resorción ósea (6,31,50,61). Sin embargo, en las aves, su función no está perfectamente bien aclarada.

La mayoría de los autores concuerdan en que el mayor estímulo para la producción de calcitonina es una elevada concentración de calcio sanguíneo (13,16). También se ha demostrado que otros agentes, como el glucagón pancreático o alguna hormona gastrointestinal (gastrina) relacio-

nada con éste, estimulan la formación de calcitonina (12,-13,18,19).

No se conoce muy bien el papel que ejerce la calcitonina sobre el control metabólico del fósforo. Sin embargo, se sabe que su efecto es más leve en el tejido renal - que en el tejido óseo, excepción hecha cuando la resorción ósea es muy baja.

Hipervitaminosis D.-

Los primeros reportes de que se tiene conocimiento, sobre la intoxicación por vitamina D fueron hechos en Alemania (Kreitmair y Moll, 1928; Pfannestiel, 1928). A partir de estos reportes, numerosos casos en forma natural y experimental han sido notificados en distintas especies -- animales (57,60,69,70).

Se ha visto que la intoxicación no solamente puede ser producida por la excesiva ingestión de la vitamina D - en el alimento, sino también por el consumo accidental de plantas que contienen metabolitos cuyo efecto fisiopatológico es idéntico al que producen los metabolitos de la vitamina D. Entre estas plantas se encuentran el Solanum malacoxylon (69), el Cestrum diurnum (54) y el Solanum sodomaceum (68).

Para demostrar la potencia de los metabolitos que - contienen estas plantas, se han hecho experimentos en ani-

males, a cuya dieta han sido añadidas elevadas cantidades de estroncio para inhibir la absorción del calcio intestinal. Cuando se proporciona Solanum malacoxylon, se observa inhibición de la acción del estroncio sobre la absorción intestinal del calcio.

Para que haya un efecto clínico patológico, es necesaria la presencia de cantidades muy elevadas de vitamina D en la dieta. Esto da un amplio margen de seguridad, lo cual está obviamente relacionado al metabolismo de la vitamina; cuando ésta es ingerida, se transforma en el hígado en 25-dihidroxicolecalciferol y después en el riñón en 1,25-dihidroxicolecalciferol, o sea su forma metabólica. Esta hidroxilación a nivel renal es controlada cuando menos por dos factores: el calcio plasmático y la hormona paratiroidea plasmática (12,26,67).

Se ha mencionado la posibilidad de un mecanismo de regulación por medio del cual, al aumentar el colecalciferol en sangre, se inhibe la hidroxilación hepática a nivel del carbono 25, previniendo su conversión en 25-HCC(26), aunque la presencia de cantidades masivas de la vitamina D en la sangre, posiblemente neutralicen el efecto protector del organismo.

La vitamina D₃ está presente en la micela y se absorbe por un mecanismo de difusión pasiva en el intestino, por lo que cantidades tóxicas pasarán al torrente circula-

torio si su ingestión es excesiva (14,44). Esto producirá elevada concentración de 25-hidroxivitamina D₃ (26), transformándose en 1,25-OH-D₃ en el riñón.

Uno de los puntos más sobresalientes en la intoxicación por vitamina D es la hipercalcemia (1), aunque se ha reportado también normocalcemia (69). El grado de hipercalcemia dependerá, en parte, de los niveles dietéticos de la vitamina D (15,21), y de calcio y fósforo (71, 72, 73,78). La hipercalcemia se atribuye a una elevada absorción del calcio intestinal, y a la liberación de calcio -- del tejido óseo (15,25,42).

Los cambios microscópicos observados en el tejido óseo de animales intoxicados con vitamina D₃, se describen como una disminución en la osteolisis, atrofia de los osteocitos con pérdida de basofilia de los bordes alrededor de las lagunas, disminución en la resorción y osteopetrosis (21,82). Cambios similares han sido descritos en la intoxicación por Cestrum diurnum (50,54), Solanum malacoxylon (69), tratamiento con inyecciones de calcitonina (6,83) e intoxicación por fósforo en ratas (82).

Otro de los cambios tisulares encontrados en envenenamiento por vitamina D, es la calcificación de tejidos blandos (9,27,40,51). Se ha señalado que la lesión primaria en los tejidos blandos es de tipo degenerativo, y por lo tanto, la calcificación es distrófica (21,40). Sin

embargo, existe todavía controversia sobre este punto, ya que también se afirma que la calcificación de los tejidos blandos es de tipo metastásico (2,20,22,38).

Se desconoce todavía el mecanismo por el cual la vitamina D₃ en dosis elevadas produce efecto tóxico sobre los tejidos, seguido posteriormente por calcificación. Se ha mencionado que su acción se presenta a nivel de membranas celulares (41), lo cual podría dar una explicación al proceso degenerativo y necrosante en los tejidos.

Hay escasa información científica sobre la intoxicación por vitamina D₃ en aves. Kamel y colaboradores, en 1974, hicieron una somera descripción clinicopatológica -- del efecto de una solución acuosa de vitamina D₃ en gallinas reproductoras White Leghorn, y en su progenie.

También se han descrito casos experimentales de intoxicación por plantas. En 1970, Ross y Kurumoto alimentaron aves White Leghorn, gallinas japonesas y codornices con polvo de fruta seca de Solanum sodomaceum, en niveles que variaban del 0.5 al 2.0 por ciento de la dieta. Observaron disminución en el crecimiento y alta mortalidad en los animales que recibieron las dosis más elevadas. En otro experimento realizado por Bassede y Humphreys (1975) alimentando pollitos con un extracto acuoso de hojas secas de Solanum malacoxylon durante 30 días, encontraron hipercalcemia, hipomagnesemia, hipofosfatemia, hipouricemia, --

así como disminución en la actividad de la fosfatasa alcalina y en el contenido de cenizas de la tibia.

La intoxicación por vitamina D₃ en aves, al igual que otras intoxicaciones, son causadas generalmente por fallas de tipo humano. Por ello, la intención de este trabajo experimental es el contribuir a un mayor conocimiento de esta entidad patológica. Para ello, se pretende estudiar el efecto clínico patológico que tiene la vitamina D₃ en concentraciones elevadas, cuando es proporcionada en la dieta de pollitos white Leghorn de cuatro semanas de edad describiendo los cambios microscópicos que se presentan en el tejido óseo, glándulas paratiroides, cuerpo ultimobronquial, riñón, pulmón, grandes vasos y músculo esquelético, y relacionarlos con los niveles de calcio y fósforo séricos.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Animales.--

Ciento cincuenta pollos machos White Leghorn de cuatro semanas de edad, fueron alojados en criadoras eléctricas en batería (0.4 X 0.6 X 0.3 m), con temperatura controlada, aire filtrado y luz permanente. Durante las primeras cuatro semanas de vida, las aves fueron alimentadas con una dieta tipo práctico sorgo + soya que contenía 20 % de proteína, 1.0% de calcio, 0.70 % de fósforo y 1,500 UI de vitamina D₃ por Kg de alimento, para cubrir las necesidades que señala el NRC 91977) para aves en iniciación hasta las cuatro semanas de edad.

Los pollos fueron pesados individualmente a las cuatro semanas de edad y distribuidos en 15 grupos de diez aves cada uno, procurando tener pesos lo más homogéneo posible. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, y en los tratamientos, un arreglo factorial 2 X 2. Las combinaciones para los tratamientos fueron en base a dos niveles de vitamina D₃, 20,500 UI/Kg y 205,000 UI/Kg (que equivalen a aproximadamente 100 y 1,000 veces, respectivamente, los niveles recomendados por el NRC de 1977) y en base a dos niveles de calcio, 0.92 % y 0.62 % de la dieta; de ellos, uno al requerimiento establecido por el NRC (1977) y el otro menor a las necesidades de pollitos de esa edad, según se expresa en el Cuadro 3.

Se utilizó como dieta control, una ración que satisfacía adecuadamente las necesidades de calcio (0.92%) y vitamina D₃ (200 UI/Kg) señalados por el NRC. La composición de las dietas basales empleadas para estudiar el efecto de niveles elevados de vitamina D₃ en dietas adecuadas en calcio y este último a niveles subóptimos, aparece en el Cuadro 2.

La duración del experimento fué de 31 días. Tanto el alimento como el agua fueron proporcionados ad libitum.

Vacunas.-

Las aves fueron vacunadas con productos comerciales contra la enfermedad de Marek al primer día, enfermedad de Newcastle Cepa B₁ vía ocular al 7o. día y al día 28 con Cepa La Sota vía intramuscular y contra la Viruela Aviaria - ese mismo día.

Ganancia de peso:

Los pollos fueron pesados los días 28,36,44,52 y 59 de edad, calculándose el consumo de alimento y conversión alimenticia.

Análisis clínicos:

Se colectaron muestras de sangre de la vena axial - los días 28,37,46 y 55 de edad, obteniéndose el suero y de

terminándose los niveles de calcio y de fósforo, por medio de los métodos de Diehl y Ellingbhos (27) y Itaya y Michio (49) respectivamente.

Cambios patológicos:

Durante todo el periodo experimental, las aves fueron observadas diariamente reportándose cualquier anormalidad. Dos animales de cada grupo fueron sacrificados por shock eléctrico los días 38, 47 y 58 de edad, anotándose los cambios macroscópicos.

Muestras de tibia, riñón, arterias, miocardio, pulmón y músculo pectoral fueron fijados en formol al 10 %; los huesos fueron posteriormente descalcificados.

Posteriormente los tejidos fueron embebidos en parafina, cortados a 6 micras de espesor, y teñidos con Hema - toxilina y Eosina (H&E).

Análisis estadístico:

Los datos obtenidos de ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia se analizaron de acuerdo a el modelo:

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + E_{ijk}$$

X_{ijk} = k -ésima observación dentro del i-ésimo y j-ésimo factor, para las variables en estudio, en su caso ganancia de pe-

so, consumo de alimento, conversión --
alimenticia y calcio y fósforo séri --
cos.

μ = Media general.

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A.

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B.

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción de los facto-
res A y B.

E_{ijk} = Error que se asume ser aleatoric y --
distribuido normalmente.

RESULTADOS

Los datos promedio para la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia aparecen en el Cuadro 4.

Ganancia de peso.

El análisis estadístico indicó que las diferencias en el peso de las aves se debían únicamente al efecto de la vitamina D_3 . Como puede verse en la Gráfica 1, la ganancia de peso disminuyó significativamente ($P < 0.05$) con los niveles altos de vitamina D_3 , siendo más marcado este efecto cuando las aves consumieron el nivel más bajo de calcio.

Consumo de alimento.

Para esta variable, el análisis estadístico mostró un efecto altamente significativo ($F < 0.01$) para niveles de vitamina D_3 y para niveles de calcio, y la interacción entre niveles de vitamina D_3 con niveles de calcio fue también altamente significativa (Gráfica 2).

Conversión alimenticia.

Los resultados fueron similares con los de ganancia de peso en que, únicamente se encontró efecto significativo para los niveles de vitamina D_3 . La conversión alimenticia se redujo en los pollitos alimentados con las dietas

que contenían niveles elevados de vitamina D₃, siendo más-marcado en aquellos que recibieron el nivel bajo de calcio y el nivel elevado de vitamina D₃ (Gráfica 3).

Análisis clínicos.

Calcio sérico.-

El análisis estadístico no indicó diferencias significativas en el calcio sérico entre tratamientos, sin embargo, numéricamente las aves alimentadas con los niveles de vitamina D₃ arriba de las necesidades señaladas por el NRC (1977), presentaban valores superiores (Gráfica 4).

Fósforo sérico.-

Por lo que compete a las determinaciones de fósforo sérico, el análisis estadístico mostró diferencias únicamente para los niveles de calcio, se aprecia que los valores más altos de este elemento se presentaron en los pollos con dietas que contenían niveles subóptimos de calcio. (Gráfica 5).

En los cuadros 6,7,8,9 y 10 s. pueden observar los análisis estadísticos realizados.

Observación clínica:

Las aves fueron observadas diariamente reportándose cualquier alteración de tipo clínico.

El grupo testigo no mostró cambios clínicos duran-

te el experimento, en los lotes alimentados con 20,500 UI de vitamina D₃ por Kg de alimento no se notaron alteraciones clínicas.

En los lotes alimentados con 205,000 UI de vitamina D₃/Kg de alimento hubo alteraciones en su comportamiento, siendo más marcado este efecto en el lote 5 (0.62 % de calcio; 0.74 % de fósforo y 205,000 UI de vitamina D₃ por Kg de alimento), observándose principalmente poliuria, tristeza, erizamiento de pluma, falta de desarrollo, apatía. Estos signos fueron aumentando conforme avanzaba el experimento, y en la última semana se veían las aves sentadas sobre sus tarsos, o con incoordinación en sus movimientos.

En ninguno de los grupos experimentales hubo mortandad.

Observación post-mortem:

En el lote testigo no se observaron alteraciones macroscópicas aparentes.

Los primeros cambios macroscópicos se observaron -- aproximadamente al día 20 del experimento, observándose atrofia de los músculos pectorales y lesiones severas en los riñones, los cuales estaban pálidos y aumentados de volumen, los túbulos y ureteres se notaban distendidos y llenos de uratos, siendo estos cambios más severos en los lotes alimentados con 205,000 UI de vit. D₃/Kg de alimento.

Estudio histopatológico:

En el grupo control no se observaron alteraciones microscópicas.

En los lotes alimentados con 205,000 UI de vitamina D₃ por Kg de alimento, se tomaron muestras de tejidos los días 10, 20 y 31 del experimento, siendo notables los cambios microscópicos en tejidos blandos.

Durante los primeros 10 días del experimento en el riñón, se observó severa degeneración de las células de los túbulos colectores, cuyo citoplasma estaba encogido e irregular, los núcleos picnóticos, quedando únicamente inalterable el almacén del tejido conectivo alrededor del conducto tubular (Figura 1). En los glomérulos de Malpighi hubo aumento moderado en el número de células epiteliales y endoteliales y en el espacio de Bowman (Figura 3). Al día 20 del experimento se observaron áreas de calcinosis, nefritis focal e intersticial (Figura 2).

No hubo alteraciones microscópicas aparentes en el miocardio durante los primeros 10 días del experimento; sin embargo a partir del día 20 se notó un aumento considerable de la coloración basofílica de todas las capas de las arteriolas pequeñas, más adelante también los vasos de tamaño mediano sufrieron alteraciones, acompañadas por infiltración linfocitaria periarterial y procesos de degeneración y necrosis de las fibras musculares alrededor de

las arterias (Figura 6).

Las lesiones pulmonares tuvieron moderada severidad consistiendo casi exclusivamente en edema intersticial, infiltración linfocitaria difusa y periarteritis linfocítica.

En la arteria aorta los cambios histológicos fueron poco severos durante todo el experimento, observándose ligera infiltración por linfocitos distribuidos focalmente en la capa íntima, cuyas células estaban irregularmente distribuidas (Figuras 4 y 5).

Los cambios microscópicos en las glándulas paratiroideas indicaron un aumento paulatino en la cantidad de tejido conjuntivo alrededor de los acinis glandulares. La población de los acinis estaba compuesta por una mezcla de células principales, claras, oscuras y acuosas.

En las aves del grupo control se notó una menor cantidad de tejido conjuntivo intersticial y los acinis glandulares estaban compuestos por una población predominante en células principales claras, oscuras y acuosas.

Tejido óseo:

Las observaciones histológicas en el hueso cortical de las aves del grupo control indicaron una elevada y uniforme actividad metabólica, lo cual es de suponer en animales en rápido crecimiento. En el lote experimental, sin

embargo, los cambios fueron paralelos en grado de severidad al número de días del experimento; numerosos osteocitos se encontraban contraídos y deformes con algunas lagunas vacías, así como la presencia de líneas de crecimiento, indicadoras de una disminución en la actividad osteolítica de los osteocitos.

En la placa epifisaria del grupo tratado durante los primeros 10 días del experimento se observó una irregular separación de las células cartilaginosas en su unión del cartilago proliferativo con la zona de crecimiento; -- numerosas células carecían de núcleo, quedando únicamente la membrana celular. Los cambios más notables se observaron en las capas esponjosa primaria y secundaria, donde -- había numerosos grupos de células cartilaginosas atrapadas en espículas (Figuras 8); además, las lengüetas cartilaginosas eran más cortas y delgadas comparándolas con las aves del lote testigo (Figura 7). La actividad osteoblástica estuvo disminuída, incrementándose ligeramente el número de osteoclastos, especialmente en las áreas donde había procesos de necrosis del tejido.

Los cambios histológicos observados en el cuerpo -- ultimobraquial no contribuyeron grandemente a la descripción del proceso patológico general. No se notaron cambios patológicos en el músculo esquelético a lo largo del experimento.

Se puede decir en términos generales que los cambios microscópicos observados en el tejido óseo, glándulas paratiroides, riñón y miocardio fueron bastante severos en los lotes que consumieron 205,000 UI de vitamina D₃ en la dieta, en comparación con el lote testigo, aunque similitudes entre los que consumieron 1.0 % de calcio y 0.62 % de calcio.

D I S C U S I O N

Los resultados obtenidos en pollitos White Leghorn de cuatro semanas de edad, durante un periodo experimental de 31 días, indican que la vitamina D₃ en dosis aproximadamente 1,000 veces más altas que las recomendadas por el NRC (1977) tiene efectos tóxicos. Sin embargo en un lote experimental, al cual se le proporcionó una dosis aproximadamente 100 veces mayor que lo recomendado, no hubo toxicidad aparente, lo que, aunque no pudo demostrarse en forma directa en el experimento, parece estar relacionado con un amplio margen de seguridad metabólica que el organismo posee ante la presencia de elevadas cantidades de vitamina D₃ en la dieta.

La mayoría de los pollos mostraron un aumento relativo, aunque no significativo, de los niveles séricos de calcio. En base a lo que se muestra en la Gráfica 4, se supone que, si el experimento se hubiese continuado unas semanas más, la hipercalcemia hubiera sido más manifiesta. A pesar de que la hipercalcemia no fué significativa, se considera como indicadora de intoxicación por vitamina D₃ (15), ya que se ha reportado toxicidad aún con mantenimiento de normocalcemia (69).

La presencia de hiperfosfatemia se detectó únicamente en el grupo alimentado con el tratamiento 5, que era elevado en vitamina D₃ y calcio a niveles subóptimos.

Es sabido que la vitamina D₃ incrementa la absor --

ción intestinal del fosfato, independientemente de la absorción de calcio (14,46,47), con lo que se puede explicar, parcialmente, el aumento de fósforo sérico visto en dichos animales, aunque pudiera ser que el grado de lesión tubular observado en los riñones de los pollos contribuyera también a ésto. Sin embargo, no se encontró una explicación clara a la ausencia de hiperfosfatemia en los animales del tratamiento 3, con elevada vitamina D₃ y calcio normal.

Los signos clínicos de la toxicidad fueron similares a los descritos previamente en la literatura (34,62,-66), siendo más severos cuando la vitamina D₃ aumentó, y el nivel de calcio decreció, alcanzando su severidad mayor en los animales del tratamiento 5.

Esto, creemos, podría deberse al grado de lesión renal y a las lesiones en el tejido óseo, causadas por la excesiva diferencia en aporte de vitamina D₃ y calcio, aunque no se notaron signos clínicos tan marcados en el lote que consumió dosis elevadas de vitamina D₃ y calcio normal (tratamiento 3). Como consecuencia, la ganancia de peso se vió disminuída en grado más severo a mayor haya sido dicha diferencia de consumo de alimento. Esto es similar a lo descrito anteriormente en casos de intoxicación por vitamina D₃ (34,42,53).

El consumo de alimento disminuyó significativamente

conforme bajó el contenido de calcio en la dieta. Importante es el hecho de que dicho consumo fué mayor para los pollos del tratamiento 3, lo que en parte, explica la significativa interacción encontrada. Por otra parte, también se pudo observar que aves del tratamiento 1 (control) tuvieron un consumo de alimento inferior al de las aves alimentadas con el tratamiento 2. No se tiene explicación sobre este fenómeno, pero se asocia con una tendencia, no significativa, de menor peso corporal en las aves del grupo control.

La conversión alimenticia, consecuentemente, se redujo en pollitos alimentados con las dietas que contenían niveles elevados de vitamina D_3 , siendo mayor en los que recibieron el nivel más bajo de calcio. Esto coincide con lo reportado en casos de hipervitaminosis D_3 (20,34,49,50).

Nuestro experimento reportó calcificación de tejidos blandos como resultado de un proceso degenerativo, lo que ha sido considerado como una característica en intoxicación por vitamina D_3 (9,21,35,44). El mecanismo por el cual la vitamina D_3 en dosis excesivas, ejerce su efecto tóxico e inicia la calcificación, es aún desconocido. Si la vitamina tiene un efecto tóxico sobre las membranas, como ha sido reportado (41), podrá explicarse la degeneración celular y la necrosis, lo que podría estimular una reacción inflamatoria de respuesta.

En las glándulas paratiroides de los animales de los grupos 3 y 5, se observó aumento del tejido conjuntivo intersticial, con cambios en la población celular de los acinis glandulares, los cuales estaban compuestos por células principales claras, oscuras y acuosas. Esto ha sido anteriormente atribuido a la hipercalcemia vista en hipervitaminosis (21) y ha sido también reportado en cerdos, en casos de intoxicación por vitamina D₃ y por Cestrum diurnum (39, 50).

En base a lo observado desde el día 10 experimental, el parénquima renal parece ser el primer tejido afectado en la intoxicación por vitamina D₃. Estas mismas lesiones han sido previamente observadas, primeramente en cambios degenerativos en los túbulos colectores, y más tarde, lesiones focales de calcinosis (21).

Existe información científica de que la toxicosis por vitamina D₃ ocasiona osteopenia, aunque la interpretación de su patogénesis varía considerablemente. La osteopenia puede ser el resultado de una excesiva resorción del tejido óseo, de osteonecrosis, ó bien, de una deficiente formación de matriz ósea (5,21).

Se ha establecido claramente que la osteólisis osteocítica es el principal mecanismo de resorción ósea, y que la osteoclasia es un fenómeno secundario de respuesta a la presencia de material óseo que ha sido previamente --

dañado (82). En nuestro estudio, se notó que la presencia de cantidades tóxicas de vitamina D₃ en la dieta produjo un efecto depresivo en los osteoblastos y en células cartilaginosas de la metafisis. Un efecto similar se vió en los osteocitos, los cuales se encontraban contraídos y deformes, lo que indicó una disminución del proceso de resorción del tejido óseo. Hallazgos similares han sido descritos previamente en intoxicación por vitamina D₃ (39), en la intoxicación por Solanum malacoxylon (70) y en la intoxicación por Cestrum diurnum (54).

C O N C L U S I O N E S

La vitamina D₃ en dosis 1,000 veces aproximadamente más elevadas que los niveles recomendados por el NRC - - (1977), demostró tener efectos tóxicos en pollitos White - Leghorn de cuatro semanas de edad.

Cuando el exceso de vitamina D₃ fué solo de aproximadamente 100 veces más que el requerimiento, no se produjo ningún efecto tóxico. En el lote de aves alimentadas con niveles subóptimos en calcio y elevados en vitamina D₃, el efecto tóxico fué más marcado.

Cuadro 1. Metabolismo de la vitamina D₃

Origen endógeno

7-dihidroxicolesterol

↓ irradiación
de la piel

colecalfiferol
Vitamina D₃

Vitamina D₃ en dieta

Vit. D₃ + 2 globulina
vida media plasmática
(20 horas)

H I G A D O

25-dihidroxi-
lación
calciferol
25 hidroxilasa
mitocondrial

25-hidroxicolecalcife-
rol.

25-DOH-CC

metabolito cir-
culante.
proteína de --
unión.
25-OHCC (α₂ glo-
bulina lipoproteí-
nas).

1-OH hidroxi-
lación.

R I Ñ O N

1,25 dihidroxicolecalcife-
rol (metabolito activo de
la vitamina D₃).

24,25-dihidroxicolecalcife-
rol.
25,26-dihidroxicolecalcife-
rol y otros metabolitos

Cuadro 2. Composición de las dietas basales experimentales empleadas para estudiar el efecto de niveles elevados de vitamina D₃. a)

Ingredientes	1	2
Sorgo	60.406	60.406
Pasta de soya	32.887	32.887
DL metionina	0.160	0.160
Aceite de cártamo	1.800	1.800
Ca ₂ CO ₃	1.842	1.053
K ₂ HPO ₄	2.247	2.247
Premezcla de vit. y min.	0.158	0.158
Sal	0.500	0.500
Arena (vehículo)	- - -	<u>0.709</u>
Total	100.000	100.000
	Análisis calculado:	
Proteína cruda, %	20.00	20.00
Lisina, %	1.12	1.12
Metionina + cistina, %	0.74	0.74
Calcio total, %	0.92	0.62
Fósforo total, %	0.74	0.74
Energía metabolizable, Kcal/Kg	2915	2915

a) Cuca y Avila (1976)

Cuadro 3. Diseño de tratamientos empleado *

Tratamiento	Calcio ‰	Fósforo ‰	Vitamina D ₃ UI/Kg
1	0.92	0.74	200
2	0.92	0.74	20,500
3	0.92	0.74	205,000
4	0.62	0.74	20,500
5	0.62	0.74	205,000

* 2 niveles de vitamina D₃ y 2 de calcio + 1 control con vitamina D₃ ajustada al requerimiento que señala el NRC -- (1977).

Cuadro 4. Rendimiento de pollos alimentados con niveles elevados de vitamina D₃ del día 28 al 59 de vida^{a, b}

Vitamina D ₃	Calcio %		Promedio ¹	Testigo ^c
	0.92	0.62		
Ganancia de peso (g)*				
A	471.9 ^m	478.0 ^m	474.9 ^m	
B	<u>404.4ⁿ</u>	<u>274.7^q</u>	339.5 ^p	
Promedio	438.1	376.3		437.9 ^m
Consumo de alimento (g)				
A	1,403 ^m	1,407 ^m	1,405 ^m	
B	<u>1,371ⁿ</u>	<u>1,100^p</u>	1,235 ^{np}	
Promedio	1,387	1,253		1,311 ⁿ
Conversión alimenticia (alimento/ganancia)				
A	2.97 ^m	2.99 ^m	2.98 ^m	
B	<u>3.39ⁿ</u>	<u>4.00^{np}</u>	3.69 ⁿ	
Promedio	3.18	3.49		2.99 ^m

* El peso promedio inicial por ave era de 264.88 g.

^a valores promedio para 10 pollos por repetición por tratamiento.

^b los niveles fueron: A= 20,500 UI; B= 205,000 UI por Kg de alimento, equivalente a 100 y 1,000 veces aproximadamente el requerimiento señalado por el NRC (1977).

^c el grupo testigo consumió 200 UI de vit. D₃/Kg alimento y 0.62 % de calcio, adecuado al requerimiento de los pollos (NRC, 1977).

1 Valores con distinta letra superescrita son estadísticamente diferentes (P < .05).

Cuadro 5. Resultados obtenidos en los niveles séricos de calcio y fósforo en pollos alimentados con niveles elevados de vitamina D₃ del día 28 al día 59 de edad.

Vit D ₃ UI/Kg	% Ca dietario		Promedio	Testigo
	0.92	0.62		

POSFORO %

20,500	4.55 ^a	6.08 ^b	5.31 ^{ab}	
205,000	<u>4.68^a</u>	<u>5.46^b</u>	5.07 ^a	
Promedio	4.61	5.77		4.97 ^a

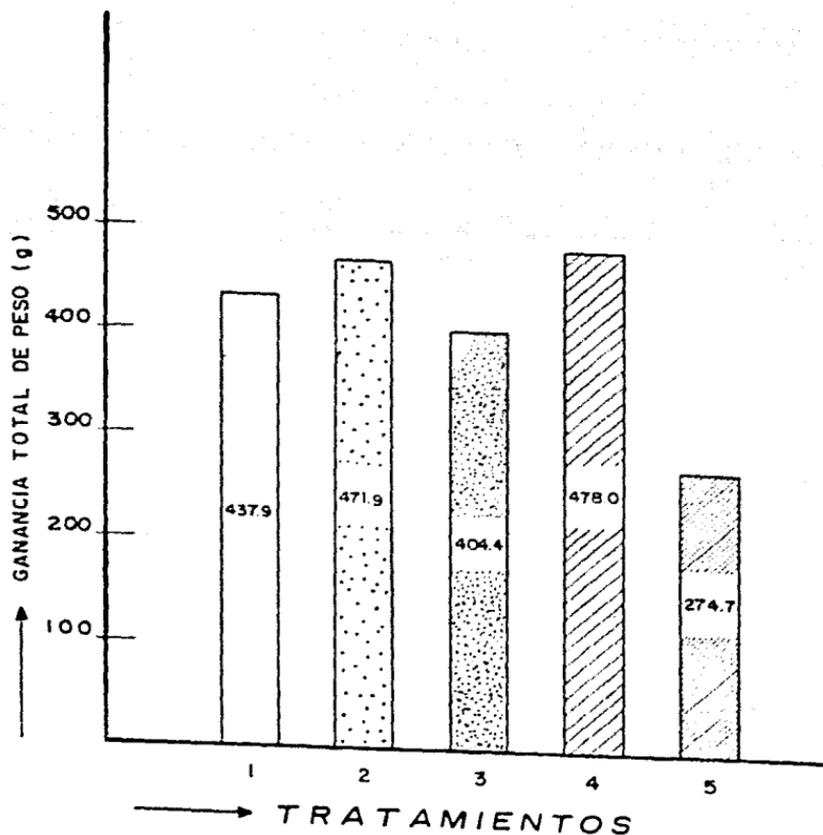
CALCIO %

20,500	8.67 ^a	9.15 ^a	8.91 ^a	
205,000	<u>9.31^a</u>	<u>8.91^a</u>	9.11 ^a	
Promedio	8.99 ^a	9.03 ^a		8.30 ^a

a, b) Valores con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

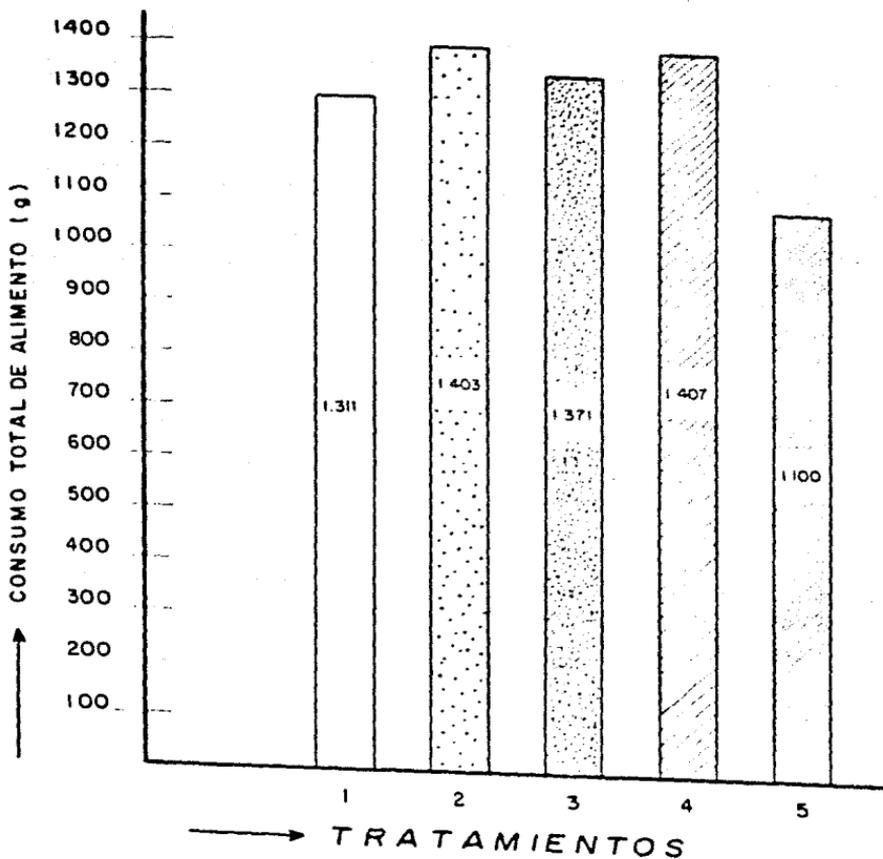
GRAFICA N°1

INFLUENCIA DE NIVELES ELEVADOS DE VITAMINA D 3 SOBRE LA GANANCIA DE PESO EN POLLOS EN CRECIMIENTO.



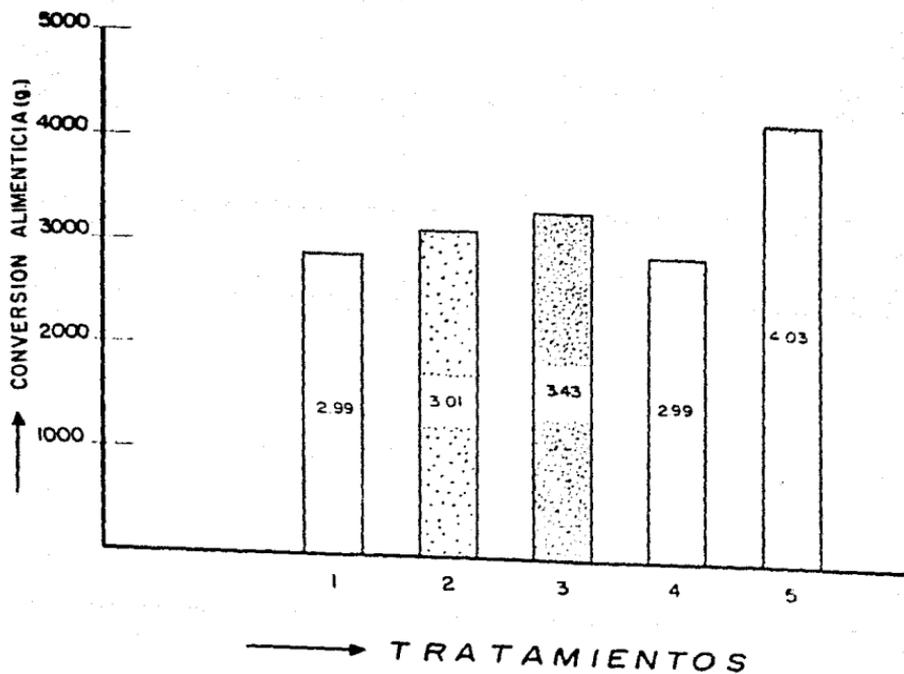
GRAFICA N°2

EFFECTO DE NIVELES ELEVADOS DE VITAMINA D3 SOBRE EL CONSUMO DE ALIMENTO EN POLLOS EN CRECIMIENTO.



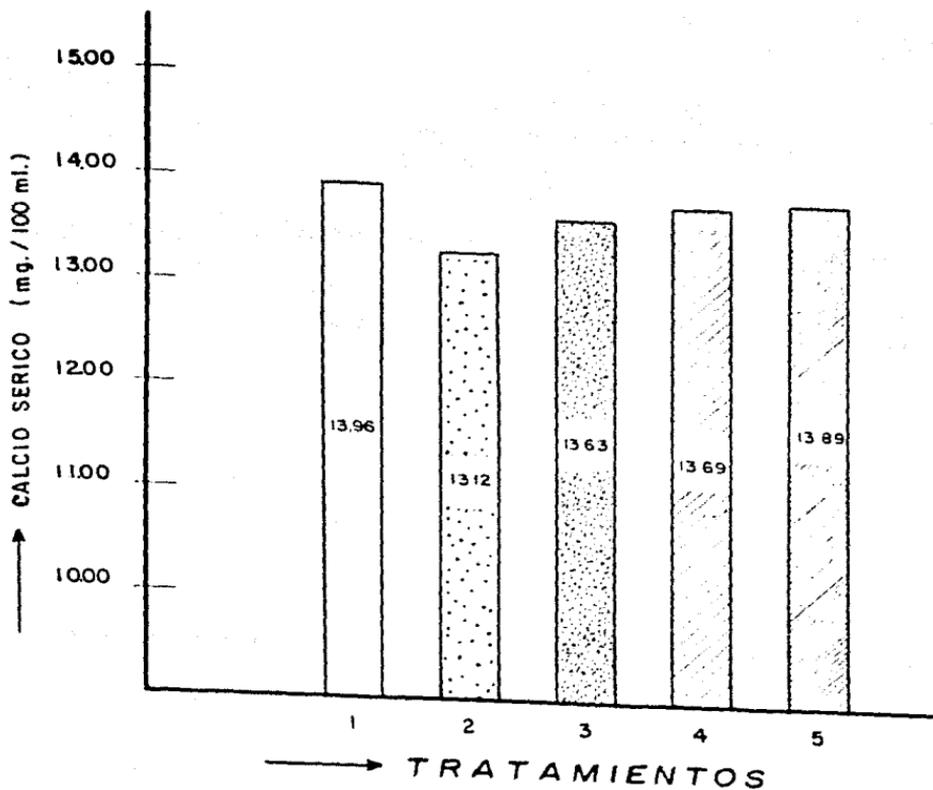
GRAFICA N° 3

EFFECTO DE NIVELES ELEVADOS DE VITAMINA D3 SOBRE LA CONVERSION ALIMENTICIA DE POLLOS EN CRECIMIENTO.



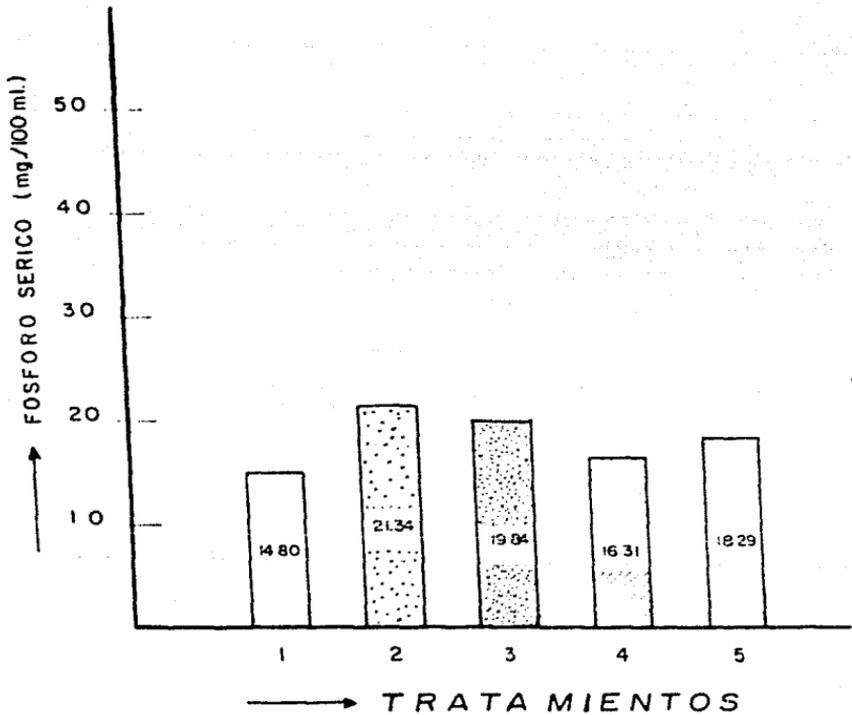
GRAFICA Nº 4

EFFECTO DE DOSIS ELEVADAS DE VITAMINA D3
SOBRE NIVELES DE CALCIO SERICO EN POLLOS
EN CRECIMIENTO.



GRAFICA N° 5

EFFECTO DE NIVELES ELEVADOS DE VITAMINA D3 SOBRE EL FOSFORO SERICO EN POLLOS EN CRECIMIENTO.



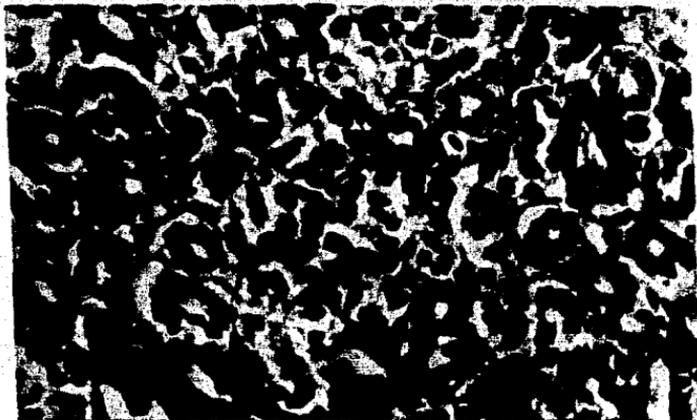


Fig. 1. Riñón, Grupo 5, 10 días de experimento. Numerosos túbulos colectores muestran cambios - picnóticos y disolución del citoplasma H. y E. - 1440X

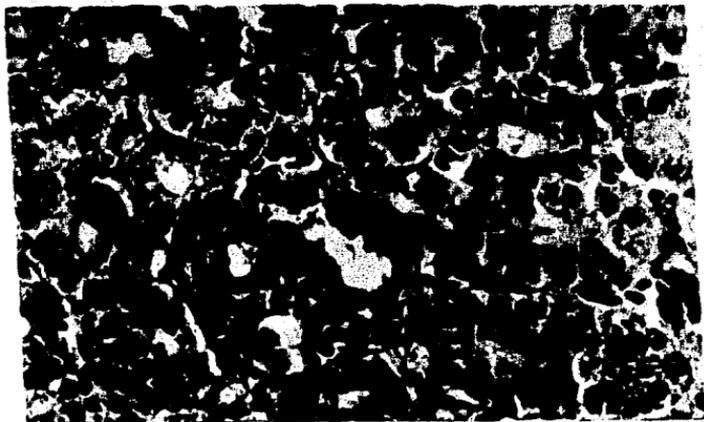


Fig. 2. Riñón, Grupo 3, 20 días de experimento. Se observa calcinosis de un túbulo renal. H y E. 1440 X.



Fig. 3. Riñón, Grupo 3, 10 días de experimento.- Hay moderado aumento en el número de células del glomérulo de Malpigio, H. y E. 1400X.



Fig. 4. Arteria aorta normal. Grupo control, 10- días de experimento, H y E, 576 X.

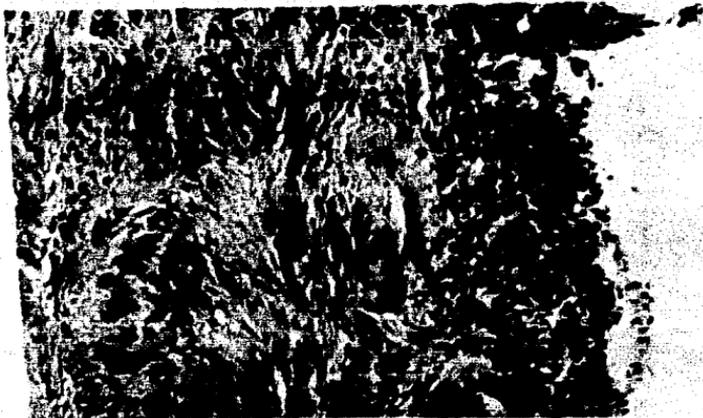


Fig. 5. Arteria aorta. Gpo. 3, 20 días de exp.- Las capas íntima, elástica interna y muscular - interna muestran necrosis severa y fragmenta - ción celular con aumento de basofilia. Nótese - que hay pérdida de la arquitectura histológica de la túnica muscular. H y E 576X.



Fig. 6. Arteriola del miocardio. Grupo 3, 20 - días de experimento. Las células de la capa ín - tima muestran desorganización histológica; ade - más comienza a haber zonas de intensa basofilia que abarcan las capas íntima y media. HyE, 1440X.

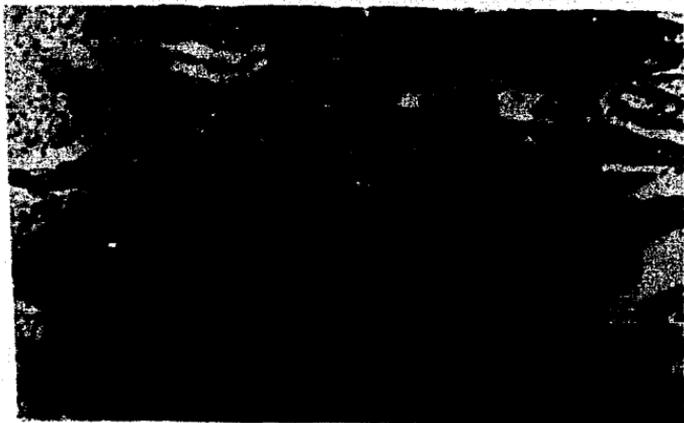


Fig. 7. Tibia proximal. Grupo 1, 10 días de experimento. Se observan largas lenguetas cartilaginosas en la capa esponjosa secundaria, lo cual indica ligera disminución de la resorción del tejido cartilaginoso. H y E. 226.8X.



Fig. 8. Tibia proximal. Grupo 5, 10 días de experimento. Hay deficiente reabsorción de células cartilaginosas, las cuales han quedado atrapadas en las espículas. La actividad osteoblástica es normal. H y E, 576X.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bassetde, C. D. K. y Humphreys, D. J. Hypercalcemia, hypermagnesemia, hipophosphatemia, hypouricemia, alkaline phosphatase activity decrease tibial ash content decrease body weight, hyper vitaminosis D₃. Res. Vet.-Sci. 18: 330-331, 1975.
- 2.- Bauer, J. M. y R. H. Frehberg. Vitamin D intoxication with metastatic calcification. J. Amer. Med. Assn., 130:1208-1215, 1946.
- 3.- Bélanger, L., F., M. T. Diamond y D. H. Copp. Histological observations on bone and cartilage of growing turtles treated with calcitonin. Ge. Com. Endocrinol., 20:297-304, 1973.
- 4.- Bélanger, L.F., J. Robichon, B.D. Migicovsky, B.H. Copp y J. Vicent. Resorption without osteoclast (osteolysis). In "Mechanism of Hard Tissue Destruction". R. F. Sognnaes. ed. Amer. Assoc. Advanc. Sci., Washington, D.C. pp. 531-556, 1963.
- 5.- Bélanger, L. F., T. Semba, S. Tolnai, D. H. Copp, L. Krook y C. Gries. The two faces of resorption. In: "3rd Europ. Symp. Calcif. Tiss." H. Fleisch, H. J. J. Blackwood and M. Owen eds. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam. pp. 1-9.- 1966.
- 6.- Bélanger, L. F. y H. Rasmussen. Inhibition of osteocytic osteolysis by thyrocalcitonin and some anti-growth factors. In: "Parathyroid Hormone and Thyrocalcitonin (Calcitonin)", R. v. Talmage and L. F. Bélanger, eds. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam. pp.156-162, -- 1968.
- 7.- Beutner, L. H. y Munson, F. L. Time course of urinary excretion of inorganic phosphate by rats after parathyroidectomy and after injection of parathyroid extract. Endocrinol. 66: 610-616, 1960.
- 8.- Bussolati, G. y Pearse, A. G. E. Immunofluorescent localization of calcitonin in the "C" cells of pig and dog thyroid. J. Endocrinol. 37: 205-209, 1967.
- 9.- Capen, D. C., C. R. Cole y J. W. Hibb. The pathology of hypervitaminosis D in cattle. Path. Vet., 3:350-378, 1966.

- 10.- Care, A. D., Cooper, C. W., Duncan, T. y Orimo, H. A study of thyrocalcitonin secretion by direct measurement of in vivo secretion rates in pigs. Endocrinology 83:161-169, 1968.
- 11.- Care, A. D. Secretion of thyrocalcitonin. Nature 205 1289-1291, 1965.
- 12.- Care, A. D., Bates, R. F. L., y Gitelman, H. J. The role of glucagon in the release of thyrocalcitonin. - J. Endocrinol. 43: 1v, 1969.
- 13.- Care, A. D., Bates, R. F. L., y Gitelman, H. J. A possible role for the adenyl cyclase system in calcitonin release. J. Endocrinol. 48: 1-15. 1970:
- 14.- Carlsson. A. y B. Lindquist. Comparison of intestinal and skeletal effects of vitamin D in relation to dosage. Acta physiol. Scand 35: 53-55. 1955.
- 15.- Conrad, H. R. y S. J. Hansard. Effects of massive doses of vitamin D on physiological behavior of calcium in cattle. J. Appl. Physiological 10: 98-102, 1957.
- 16.- Copp, D. H., Cameron, E. C., Cheney, B. A., Davidson, A. G. F. y Henzl. K. G. Evidence for calcitonin, a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. Endocrinology 70: 638-649. 1962.
- 17.- Copp, D. H., Cockcroft, D. W., y Kueh, Y. Ultimobran-chial origin of calcitonin. Hypocalcemic effect of extracts from chicken glands. Canad. J. Physiol. - - Pharm. 45:1095-1099, 1967.
- 18.- Cooper, C. W., Schwesinger, W. H. Maghoub, A. M., y - Ontjes, D. A. Thyrocalcitonin: stimulation of secretion by pentagastrin. Science 172: 1238-1240, 1971.
- 19.- Cooper, C. W., Schwesinger, W. H., Ontjes, D. A., -- Maghoub, A. M., y Munson, P. L. Stimulation of secretion of pig thyrocalcitonin by gastrin and related hormonal peptides. Endocrinology 91: 1079-1089, - - 1972a.
- 20.- Chevillie, N. F. "Cell Pathology", The Iowa State University Press. Ames. Iowa. pp. 72-73. 1976.
- 21.- Chineme, C. N., L. Krook y W. G. Pond. Bone Pathology in hypervitaminosis D. An experimental study in young

pigs. Cornell Vet., 66: 387-412, 1976.

- 22.- Christense, W. R., C. Liebmann y K. C. Sosman. Skeletal and periarticular manifestations of hypervitaminosis D. Amer. J. Roetgenol., 65: 27-39, 1951.
- 23.- Corradino, R. A., Wasserman, R. H., Pubols, M. H., -- y Chang, S. I. Vitamin D₃ induction of a calcium-binding protein in the uterids of the laying hen. Arch.-Bioch. Biophys. 125: 378-380, 1968.
- 24.- Cuca, G. M y G. E. Avila. La alimentación de las aves de corral. Colegio de postgraduados, E.M.A., Chapin - go, I.N.I.P. S.A.G., Bol. 11-13, 1976.
- 25.- Danowski, T. A. Calcium, phosphorus, parathyroids and Bone. In: "Clinical Endocrinology", Vol. III, The Williams and Wilkins Company, Baltimore. pp. 251-269, - 1962.
- 26.- DeLuca, H. F. y H. K. Schoes. Metabolism and mechanism of action of vitamin D. Ann. Rev. Biochem., 45: 631-666, 1976.
- 27.- Diehl, H. y Ellingboe, J. L. UR-IB-007. Beckman Instruments, Inc. Fullerton Calif. Anal., Anal. Chem. -- Technical Bulletin, 28:882, 1956.
- 28.- Eisentein, R., y Passavoy, L. Actinomycin D inhibits parathyroid hormone and vitamin D activity. Proc. Soc. Explt. Biol. Med., 117:77-79, 1964.
- 29.- Fester, G. V., Baghliantz, A., Kumar, M. A., Slack., - E. Solisman, H. A. y McIntyre, I. Thyroid origin of - calcitonin. Nature 202: 1303-1305, 1964.
- 30.- Fraser, D. R., y Kodicek, E. Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by - parathyroid hormone. Nature New Biology 241: 163-166, 1973.
- 31.- Friedman, J., y Raisz, L. G. Thyrocalcitonin: inhibitor of bone resorption in tissue culture. Science -- 150: 1465-1467, 1965.
- 32.- Galante, L., Colston, K. W., Evans, I.M.A., Byfield - P. G. H., Matthews, E. W., y McIntyre, I. The regulation of vitamin D metabolism. Nature New Biol. 244:-

438-440, 1973.

- 33.- Garabedian, M., Holick, M. F., DeLuca, H. F., y Boyle, I. T. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69: 1673-1676, 1972.
- 34.- Garlich, P. V., y R. D. Wyatt. Effects of increased-vitamin D on calcium retention and shell calcification. Dep of Poultry Sci. North Carolina St. Univ.,-Raleigh N. C. 27607. Nov. 26, 1970.
- 35.- Griminger, P. Influence of maternal vit D (toxicity)-intake on growth and bone ash of offspring. Poul. --Sci. 849-851, 1966.
- 36.- Hancox, N. The osteoclast. In: The biochemistry and -physiology of bone. Bourne, G. H., ed. Academic -- Press. pp. 213-250, 1956.
- 37.- Ham, A. W. y M. D. Lewis. Hypervitaminosis D rickets: The action of vitamin D. Brit. J. exp. Path. 15: 228-234, 1934.
- 38.- Ham, A. W. Mechanisms of calcification in the heart - and aorta in hypervitaminosis D. Arch. Path., 14: -- 613-626, 1932.
- 39.- Haschek, W. M., Krock, L., Kallfelz, F. A. y Pond, J. G. Vitamin D Toxicity Initial site and mode of action. Cornell Vet., 68: 324-364, 1978.
- 40.- Hass, G. M., R. E. Trueheart, C. B. Taylor y M. Stumpe. An experimental histologic study of hypervitaminosis D. Amer. J. Path., 34: 395-431. 1958.
- 41.- Hayes, K. C. y D. M. Hegsted. Toxicity of the vitamins. Vitamin D in: "Toxicants occurring naturally in foods". National Research Council. National Academy - of Sciences, Washington, D. C. pp. 239-242, 1973.
- 42.- Hess, A. F., H. R. Benjamin and J. Gross. The source-of excess calcium in hypercalcemia induced by irradiated ergosterol. J. Biol. Chem., 94: 1-8, 1931.
- 43.- Holick, M. F., Schnoes, H. K., De Luca, H. F., Suda, T., y Cousins, R. J. Isolation and identification of-1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vita -

- min D active in intestine. *Biochemistry* 10: 2799 ----
2804, 1971c.
- 44.- Hollander, D. Mechanism and site of small intestinal-
uptake of vitamin D₃ in pharmacological concentra-
tions. *Amer. J. clin. Nutr.*, 29: 970-975, 1976.
- 45.- Huldshinsky, K. Hestung von rachits durch kunatliche
hokensonne. *D. Lunc. Med. Wschr.*, 45: 712-713, 1919.
- 46.- Hurwitz, S., y A. Bar. Relation between lumen-blood -
electrochemical potential difference of calcium, cal-
cium absorption and calcium-binding protein in the in-
testine of the fowl. *J. Nutr.* 99: 217-224, 1969.
- 47.- Hurwitz, S., y A. Bar. Site of vitamin D action in -
chick intestine. *Amer. J. of physiology*: 222 (3) 761-
766, 1972.
- 48.- Itaya, K. y Vim L. A new micromethod for the colorize
tric determination of inorganic phosphate. *Clin. Chem.
Acta.*, 14: 361, 1966.
- 49.- Kamel, A. E., Said. M. E. y R. Madross. Hypervitamina-
sis D in the fowl. *J. Sci.* 3: 7-23, illus. 1973.
- 50.- Kasali, O. E., L. Krook, W. G. Pona y R. H. Wasser --
man. Cestrum diurnum intoxication in normal and hy-
perparathyroid pigs. *Cornell Vet.* 67: 190-221, 1977.
- 51.- Kent, S. P., G. F. Vawter, R. E. Dowben y R. E. Ben -
son. Hypervitaminosis D in monkeys. A clinical and -
patnological study. *Amer. J. Anat.*, 34:37-60. 1950.
- 52.- Kodicek, E. Biosynthesis of C¹⁴-labelled ergocalcife-
rol. *Biochem. J.* 60: xxv, 1955.
- 53.- kreitnair, H. y T. Moll. Hypervitaminose durch grosse
dosen vitamin D. *Lunc. med. Wschr.*, 75: 637-639; --
addendum, 75: 1113, 1926.
- 54.- Krook, L., R. W. Wasserman, E. McAntee, T. D. Brokken
y M. B. Teigland Cestrum diurnum poisoning in Florida
Cattie. *Cornell Vet.*, 65: 557-575, 1975.
- 55.- Krawet, E. L. y Scudl, H. P. In vivo calcium trans -
port by rat small intestine. *Am. J. Physiol.* 214: 232-
236, 1968.

- 56.- Martin, D. L., Melancon, M. J. y De Luca, H. F. Vitamin D stimulated, calcium-dependent adenosine triphosphatase from brush borders of rat small intestine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 35: 819-823, 1969.
- 57.- Mc Cullagh, K. G. The effect of experimental renal hypertension on the responses of the rabbit aorta to vitamin D. *British J. Exptl. Pathol.*, 54: 173-182, 1973.
- 58.- Le Auliffe, T., y J. Mc Ginnis. Effect of ultraviolet light and oral vitamin D₃ on rachitic chicks.
- 59.- Melancon, M. J. y De Luca, H. F. Vitamin D stimulation of calcium dependent adenosine triphosphatase in chick intestinal brush borders. *Biochemistry* 9: 1658-1664, 1970.
- 60.- Mellanby, E. An experimental investigation on rickets. *Lancet* 1: 407-412, 1919.
- 61.- Lilhaud, G., Ferault, A. M., y Moukhtar, M. S. Etude du mecanisme de l'action hypocalcemiante de la thyrocalcitonina. *Compt. Rend. Acad. Sci.* 261: 813-816, 1965.
- 62.- Morrissey, R. L., Conn, R. L., Simpson, R. L., Greene H. L., Taunton, O. D. y Ziporin, Z. Z. Relative toxicity and metabolic effects on cholecalciferol and 25-HDCC in chick, *J. Nutr.* 107: 1027-1034, 1977.
- 63.- Omdahl, J. L., Holick, M., Suda, T., Tanaka, T., y De Luca, H. F. Biological activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Biochemistry* 10: 2935-2940, 1971.
- 64.- Fuschett, J. B., Morantz, J. y Kurnick, W. S. Evidence for a direct action of cholecalciferol and 25-dihydroxycholecalciferol on the renal transport of phosphate, sodium and calcium. *J. Clin. Invest.* 51: 373-385, 1972a.
- 65.- Fuschett, J. B., Fernández, F. C., Boyle, I. T., Gray, R. A., Omdahl, J. L., y De Luca, H. F. The acute renal tubular effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 141: 348-364, 1972 b.

- 66.- Quaterman, J. The distribution of vitamin D between the blood and the liver in the pig, and observations on the pathology of vitamin D toxicity. Brit. J. -- Nutr. 18:65-77, 1964.
- 67.- Raisz, L. G. Inhibition by actinomycin D of bone resorption induced by parathyroid hormone or vitamin A. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 119: 614-617, 1965.
- 68.- Ross, E. y H. Furumoto. The effect of Dried fruit of Solanum sodomaceum on Japanese Quail and S. C. white Leghorn Cockerel chicks. Poul. Sci., 49: 13-14, -- 1970.
- 69.- Santos, M.N., V.Z. Nunes, I. J. Nunes, S.S. Barros, R. H. Wasserman y L. Krook. Solanum malacoxylon toxicity. Inhibition of bone resorption. Cornell Vet. -- 66:566-569, 1976.
- 70.- Scarpelli, D. G., G. Tremblay y A. G. L. Fearse. A comparative cytochemical and cytologic study of vitamin D induced neoplasia. Amer. J. Pathol. -- 331-352, 1960.
- 71.- Shelling, D. H. Calcium and phosphorus studies. III. The source of excess serum calcium in viosterol hypercalcemia. J. Biol. Chem., 96: 229-243, 1932.
- 72.- Shelling, D. H. Relation of calcium and phosphorus of diet to toxicity of viosterol. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 26: 290-301, 1930.
- 73.- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. Principles and Procedures of statistics, McGraw-Hill Book Company, -- Inc. New York, 1960.
- 74.- Tanaka, Y., y De Luca, H. F. Bone mineral mobilization activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D. Arch. Biochem. Biophys. -- 146: 574-578, 1971.
- 75.- Tanaka, Y., y De Luca, H. F. Role of 1,25-dihydroxy-vitamin D₃ in maintaining serum phosphorus and curing rickets. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71: 1040-1044, 1974.
- 76.- Taylor, A. N., y Wasserman, R. H. Vitamin D-induced calcium binding protein: comparative aspects in kid-

ney and intestine. Am. J. Physiol. 223:110-114, 1972

- 77.- Taylor, A. N. Chick brain calcium-binding protein: - comparison with intestinal vitamin D-induced calcium binding protein. Arch. Biochem. Biophys. 161:100- -- 108, 1974a.
- 78.- Thomas, J. G., y H. Morgan. The effect of cortisone- in experimental hypervitaminosis D. Endocrinology, - 63: 57-64, 1950.
- 79.- Krummel, C., L. G. Raisz., J. W. Blunt y H. M. De Lu ca. 25-hydroxycholecalciferol: stimulation of bone - resorption in tissue culture. Sci. 163: 1450-1451, - 1969.
- 80.- Wasserman, R. H., Kallfeldt, F. A., y Comar, G. L. -- Active transport of calcium by rat duodenum in vivo. Sci. 133: 803-804, 1961.
- 81.- Wasserman, R. H., y Taylor, A. N. Vitamin D₃-induced calcium binding protein in chick intestinal mucosa. -- Sci. 152: 791-793, 1966.
- 82.- Whalen, J. P., H. O. Donohue, L. Krook y E. A. Ruzic pathogenesis of abnormal remodeling of bone. -- Effect of yellow phosphorus in the growing rat. Anat. Rec. 117: 15-22, 1973.
- 83.- Whalen, J. P. L., Krook, F. MacIntyre y E. A. Ruzic. Calcitonin, parathyroidectomy and modelling of bo -- nes in the growing rat. J. Endocrinol., 66:207-212, - 1975.
- 84.- Widrow, S. H., y Levinsky, H. G. The effect of para- thyroid extract on renal tubular calcium reabsorp -- tion in the dog. J. Clin. Invest. 41: 2151-2159, -- 1962.
- 85.- Zull, J. E., Czarnowska-Lisztal, S., y De Luca, H. - F. Actinomycin D inhibition of vitamin D action. -- Sci. 149: 102-104, 1965.
- 86.- Zull, J. E., Czarnowska-Lisztal, S., y De Luca, H. - F. On the relationship between vitamin D action and- Actinomycin-sensitive processes. Proc. Natl. Acad. - Sci. USA 55:177-104, 1966.

A P E N D I C E

I

Cuadro 6.
Análisis de varianza para consumo de alimento

Factor de variación	grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F de tablas	
					5%	1%
Totales	14	232,513.33				
Tratamientos	4	196,469.33	49,117	13.63**	3.48	5.99
Testigo Vs factorial	1	202	202	1 < NS	4.96	10.04
Niveles de Vitamina D ₃	1	86,360	86,360	23.96**		
Niveles de calcio	1	53,600	53,600	14.87**		
Niveles de vitamina D ₃ X niveles de calcio	1	56,307	56,307	15.62**		
Error experimental	10	36,044	3,604			

* Indica diferencia estadística al 5% de probabilidad

** Indica diferencia estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 7.

Análisis de varianza para ganancia de peso

Factor de variación	grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F de -	
					tablas	
					5%	1%
Totales	14	122,330.03				
Tratamientos	4	82,535.03	20,634.00	5.18*	3.48	5.99
Testigo Vs factorial	1	2,104.00	2,104.00	1 < M ^s	4.96	10.04
Niveles de Vitamina D ₃	1	55,083.00	55,083.00	13.84**		
Niveles de calcio	1	11,470.00	11,470.00	2.88		
Niveles de vitamina D ₃ X niveles de calcio	1	13,878.00	13,878.00	3.48		
Error experimental	10	39,795.00	3,979.00			

* Indica diferencia estadística al 5% de probabilidad

** Indica diferencia estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 8.

Análisis de varianza para conversión alimenticia.

Factor de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F de tablas	
					5%	1%
Totales	14	4.19				
Tratamientos	4	2.49	0.62	3.65*	3.48	5.99
Testigo Vs Factorial	1	.33	.33	1.94	4.96	10.04
Niveles de Vitamina D ₃	1	1.66	1.66	9.76**		
Niveles de calcio	1	.23	.23	1.35		
Niveles de vitamina D ₃ x niveles de calcio	1	.27	.27	1.59		
Error experimental	10	1.70	.17			

* Indica diferencia estadística al 5% de probabilidad

** Indica diferencia estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 9.

Análisis de varianza para niveles séricos de calcio

Factor de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F de tablas	
					5%	1%
Totales	14	7.76				
Tratamientos	4	1.91	.4775	1.25	3.84	7.01
Testigo Vs Factorial	1	1.19	1.19	3.13	5.32	11.26
Niveles de Vitamina D ₃	1	.12	.12	1	5.32	11.26
Niveles de calcio	1	.01	.01	1	5.32	11.26
Niveles de vitamina D ₃ Δ niveles de calcio		.59	.59			
Bloques	2	2.83	1.41	.37	4.46	8.65
Error experimental	8	3.02	.38			

Cuadro 10.

Análisis de varianza para niveles séricos de iósforo

Factor de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F Calculada	F de tablas	
					5%	1%
Totales	14	15.70				
tratamientos	4	4.72	1.18	1.59	3.84	7.01
Testigo Vs. Factorial	1	.12	.12	1	5.32	11.26
Niveles de Vitamina D ₃	1	.17	.17	1	5.32	11.26
Niveles de calcio	1	4.00	4.00	5.40*	5.32	11.26
Niveles de Vitamina D ₃ X niveles de calcio	1	.43	.43	1	5.32	11.26
Bloques	2	.30	.15	1	4.46	8.65
Error	8	5.96	.74			

* Indica diferencia estadística al 5% de probabilidad.