

29
2ej.



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Estudios Superiores
CUAUTITLAN



EFECTO DE LA L-TRİYODOTIRONINA EN RATAS ESTEATOSICAS

TESIS CON
FALLA DE CEMENTO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
ARELI LEAL BARRERA

Asesor: Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Miranda



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

R E S U M E N

Durante este proyecto se realizó la investigación del efecto que se da en el hepatocito en presencia de un hepatotóxico como es el tetracloruro de carbono, el cual provoca una esteatosis hepática que en presencia de la hormona tiroidea L- triyodotironina se ve modificada.

Se sabe que la hormona tiroidea mantiene el metabolismo basal de todo el organismo, que puede ser modificado por aumentos en los niveles plasmáticos de la misma. También se sabe que existe un mecanismo por el cual se regulan los niveles plasmáticos de esta hormona que recibe el nombre de Regulación de Feed Back.

En este estudio se utilizaron 24 ratas hembra Wistar obtenidas del bioterio de la FESC distribuidas en 5 lotes denominados A, B, C, D y E. A las cuales se les aumentó los niveles plasmáticos de la L-triyoditironina por la administración de esta hormona exógena vía oral una semana antes de la administración del hepatotóxico (CCl₄) por vía intraperitoneal utilizando como ⁴vehículo aceite mineral.

El lote D al cual se le administró ambos xenobióticos, fundamenta este trabajo, los lotes A, B, C y E sirvieron como parámetros a controlar. A las ratas se les practicó pruebas de funcionamiento hepático como: fosfatasa alcalina, gama glutamiltransferasa, bilirrubinas total, directa e indirecta, colesterol, proteínas totales y albúmina.

Finalmente se puede decir que el efecto del tetracloruro de carbono se ve disminuido en presencia de L- triyodotironina.

INDICE

	PAGINA
I.- INTRODUCCION..	5
II.- GENERALIDADES DEL HIGADO.....	7
II.1.- Anatomía	7
II.2.- Circulación Hepática	12
II.3.- Microscopia Hepática.....	14
II.4.- Lobulillo Hepático.....	16
II.4.1.- Hepatocito.....	18
II.5.- Función Hepática	20
II.6.- Procesos Anabólicos y Catabólicos	
Particulares del Hígado	23
II.6.1.- Síntesis de proteínas	
plasmáticas del hígado	23
II.6.1.1.- Globulinas... ..	23
II.6.1.2.- Factores	
de coagulación	24
II.6.1.3.- Enzimas.....	25
II.6.1.3.a.- Fosfatasa	
alcalina.....	25
II.6.1.3.b.- Gamaglutamil	
transferasa.....	26
II.6.1.3.c.- Albúmina.....	26
II.6.1.3.d.- Angiotensinógeno	27
II.6.2.- Biosíntesis de la Urea.....	27
II.6.3.- Síntesis de la creatinina.....	27
II.6.4.- Conjugación de sustancias que	
van a ser excretadas.....	28
II.6.5.- Funciones de detoxificación e	
inactivación de sustancias.....	29
II.6.6.- Metabolismo de lípidos.....	32
II.6.6.1.- Síntesis y secreción	
del colesterol.....	32
II.6.6.2.- Fosfolípidos.	33
II.6.7.- Ácidos y sales biliares	34
III.- PATOLOGÍAS DEL HIGADO.....	36
III.1.- Generalidades.....	36
III.2.- Patologías estudiadas en esta investigación....	40
III.2.1.- Esteatosis hepática.....	40
III.2.1.1.- Etiología.....	41

III.2.1.2.- Patología.....	46
III.2.1.3.- Patogenia.....	47
III.3.- El hígado en la Tirotoxicosis.....	49
III.3.1.- Tiroides	50
III.3.1.1.- Regulación actividad de la glándula tiroides.....	54
III.3.1.2.- Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas en el hepatocito.....	55
III.3.1.3.- Efectos biológicos de las hormonas tiroideas...	58
III.3.1.4.- Acción calorigénica	
III.3.1.5. Efectos sobre el metabolismo y la diferenciación.....	59
III.3.1.6. Relación con las catecolaminas.....	60
III.3.1.7. Efectos sobre el metabolismo general	60
III.3.1.7.a. Metabolismo proteico.....	60
III.3.1.7.b. Metabolismo lipídico.....	61
III.3.1.7.c. Metabolismo de carbohidratos.	62
III.3.1.7.d. Metabolismo hidrosalino...	62
IV.-OBJETIVOS.....	65
IV.1.- Objetivo General.....	65
IV.2.- Objetivos Particulares.....	65
V.- METODOLOGIA.....	66
V.1.- Material Biológico.....	66
V.2.- Procesamiento de muestras.....	68
V.3.- Pruebas de funcionamiento hepático realizadas en el laboratorio.....	70
V.3.1.- Cuantificación de Bilirrubina.....	70

V.3.2.- Cuantificación de Gamaglutamil Transferasa.....	72
V.3.3.- Cuantificación de la fosfatasa Alcalina....	74
V.3.4.- Cuantificación del Colesterol.....	76
V.3.5.- Extracción y cuantificación de albúmina sérica.....	77
V.3.6.- Cuantificación de Proteínas Totales.....	77
VI.- RESULTADOS.....	79
VI.1.- Tablas y gráficas.....	79
VII.- ANALISIS DE RESULTADOS Y DISCUSION.....	95
VIII.- CONCLUSIONES.....	102
IX.- REFERENCIAS.....	103

INDICE DE FIGURAS

	PAGINA
FIG. 1. Posición Anatómica del hígado.....	10
2. Vista Superior e Inferior del Hígado.....	11
3. Circulación Hepática.....	13
4. Esquema de la Arquitectura Hepática.....	15
5. Lobulillo Hepático.....	17
6. Esquema del Hepatocito.....	19
7. Esquema del Metabolismo de los Diferentes Nutrientes.....	22
8. Vías Catabólicas de la Hemoglobina.....	31
9. Fórmula del Colesterol.....	32
10. Estructura general de los Fosfolípidos.....	33
11. Estructura del Colesterol y Ácidos Biliares.....	35
12. Fórmula de las Hormonas Tiroideas.....	52
13. Esquema de la Glándula tiroidea y Folículo Tiroideo.....	53
14. Mecanismo de Acción de las Hormonas Tiroideas.....	57
15. Diagrama Metodológico.....	69
16. Gráfica Actividad de Fosfatasa Alcalina en Ratas.....	80
17. Gráfica Actividad de la Gama Glutamyltransferasa.....	82
18. Gráfica Concentración de Bilirrubina directa.....	84
19. Gráfica Concentración de Bilirrubina Indirecta.....	86
20. Gráfica Concentración de Bilirrubina Total.....	88
21. Gráfica Concentración de Colesterol sérico.....	90
22. Gráfica Concentración de Proteínas Séricas.....	92
23. Gráfica Concentración de Albumina Sérica.....	94

I. INTRODUCCION

El hígado es un órgano con funciones clave para el mantenimiento del equilibrio homeostático en el organismo. Es el encargado de realizar metabolismo anabólico y catabólico de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, esta encargado de detoxificar el organismo, realiza una considerable variedad de reacciones de oxidoreducción, síntesis de proteínas plasmáticas

Entre otras actividades, la función que desempeñan fisiológicamente las dos hormonas tiroideas triyodotironina(T_3) y tiroxina(T_4), poseen el papel de reguladores importantes en el metabolismo general y que actúan sobre el hepatocito; pudieran ser dos moléculas que de alguna manera influyan sobre éstas células favoreciendo o inhibiendo la respuesta conocida, que se da a nivel hepático cuando se administra tetracloruro de carbono(CCl_4), causando la patología denominada hígado graso ó esteatosis hepática

Como las hormonas T_3 y T_4 actúan sobre receptores celulares nucleares específicos, favorecen la expresión genética: transcripción y traducción y estos productos son importantes; sobre todo considerando la importancia del anabolismo proteico que tiene el hígado.

Por otro lado, se sabe que el tetracloruro de carbono CCl_4 actúa sobre el retículo endoplásmico rugoso y ello ocasiona que disminuya la síntesis proteica sobre todo de apoproteínas, causando que el transporte de lípidos del hepatocito hacia la circulación general disminuya.

Relativamente es poco lo reportado y aún más relacionando niveles de hormonas tiroideas con el efecto de éste hepatotóxico (CCl_4). De lo anterior, se desprende la inquietud que da origen a este trabajo de investigación

II. GENERALIDADES DEL HIGADO

II.1. Anatomía

El hígado es la mayor glándula del cuerpo humano, aproximadamente constituye el 21% del peso del neonato y un 15% en el adulto. Su peso oscila entre 1500 y 1800 g, en un adulto. Está situado en la parte superior de la cavidad abdominal inmediatamente por debajo del lado derecho del diafragma y unido a este, levantado y separado por 4 lóbulos (24,31,42). Fig.1. Aproximadamente mide 28 cm. en sentido transversal, 18cm. en el sentido anteroposterior y 8cm. de espesor. Tiene una densidad de 1.05 y está cubierto por una capa fibrosa y una capa serosa, las cuales derivan del peritoneo. (Fig 1. 24,27).

Se mantiene en esta posición gracias a los siguientes medios de fijación:

- 1) La vena cava inferior, a la cual está sólidamente unido por las venas suprahepáticas.
- 2) El cordón fibroso, que con el nombre de ligamento redondo del hígado, reemplaza en el adulto la vena umbilical del feto.
- 3) Repliegues peritoneales, que constituyen los ligamentos del hígado.

El conjunto de todos estos medios permite al hígado, cambios de postura o patológicos bastante extensos. (42).

Durante el desarrollo embriológico, el hígado se forma a partir de la superficie ventral del preintestino. El desarrollo morfológico del hígado casi siempre llena la cavidad abdominal y permanece relativamente voluminoso, incluso después del nacimiento. Aunque el desarrollo morfológico es completado en una fase relativamente temprana, el desarrollo funcional se termina mucho más tarde. (39).

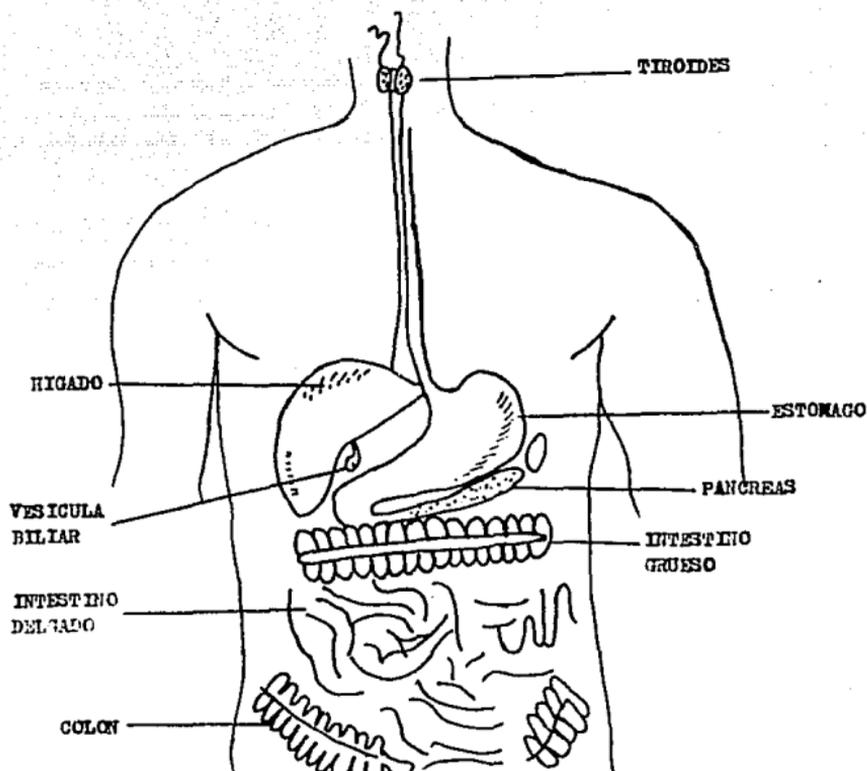
El hígado tiene forma de un ovoide grueso derecho, al que se le hubiese quitado la mitad inferior o izquierda. (24). En el organismo vivo el peso del hígado aumenta dependiendo de las condiciones en que se verifica la circulación hepática.

Su coloración rojo parda, visto de cerca parece estar constituido por una serie de granulillos de diferente color en su centro y en su periferia llamados lobulillos hepáticos.

Su consistencia es bastante dura y rígida ; sin embargo se amolda generalmente a los órganos vecinos. La superficie superior es convexa y está situada por debajo del diafragma, la superficie inferior es irregular y presenta una cisura transversal; que esta interrumpida por el paso de los vasos que entran y salen del hígado. La cisura longitudinal separa los lobulos derecho e

izquierdo en la superficie inferior, y el ligamento falciforme ocupa una posición semejante, sobre la superficie superior del hígado. De esta forma, el hígado se halla subdividido en cuatro lóbulos: derecho, izquierdo, caudado y cuadrado como se muestra en la fig.(2). Estos están compuestos por lóbulos que son de forma polihédrica y estos a su vez formados por células hepáticas cúbicas y las ramificaciones de los vasos del hígado, unidos todos ellos por tejido hepático.(24,27).

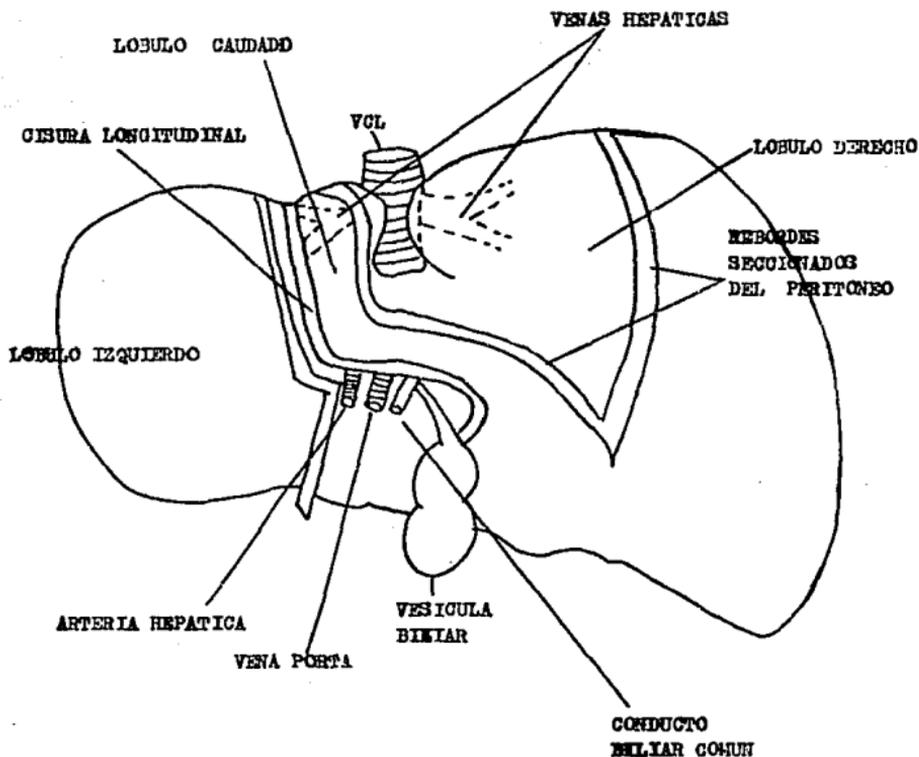
FIGURA 1. DISPOSICION ANATOMICA DEL HIGADO



SE LOCALIZA EN EL HIPOCONDRIO DERECHO, EN EL PRIMER CUADRANTE DE LA CAVIDAD ABDOMINAL.

POR ARRIBA LLEGA HASTA LA 5A. COSTILLA Y POR DEBAJO HASTA EL BORDE COSTAL DEL LADO DERECHO. (24,27).

FIGURA 2. VISTA SUPERIOR E INFERIOR DEL HIGADO



EN LA FIGURA SE MUESTRAN LOS LOBULOS DERECHO , IZQUIERDO, CUADRO Y CAUADO. ASI COMO ALGUNAS CONEXIONES CON OTROS ORGANOS. (24,27).

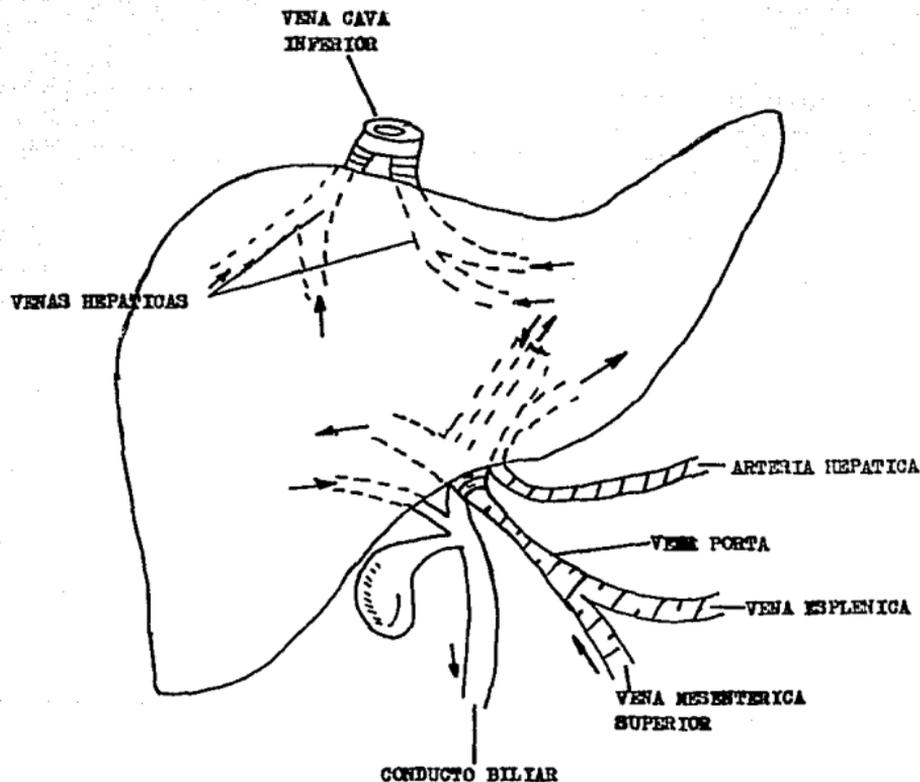
II.2. Circulación Hepática

En el hígado penetran 1100ml/min. de sangre portal, ésta fluye a través de los senos hepáticos en estrecho contacto con los cordones de células hepáticas parenquimatosas; luego penetran en las venas centrales del hígado y de ahí a la vena cava.

Aproximadamente, el flujo sanguíneo portal es de 350 ml. que penetran en el hígado cada minuto por la arteria hepática. Completando un flujo hepático total de casi 1500 ml por minuto. Un promedio de 29% del gasto cardíaco total. Este flujo sanguíneo asegura la nutrición en el tejido conectivo y especialmente en las paredes de los conductos biliares. Por lo tanto, la desaparición del flujo sanguíneo arterial hepático puede causar la muerte produciendo necrosis en las estructuras básicas del hígado. La sangre de la arteria hepática después de regar elementos estructurales del hígado, se vacía en los senos hepáticos para enseguida mezclarse en la sangre portal. fig. 3 (24,28).

El hígado tiene la capacidad de almacenar hasta un 13% de su volumen de sangre total del cuerpo. (28,32).

FIGURA 3. ESQUEMA DE LA CIRCULACION HEPATICA

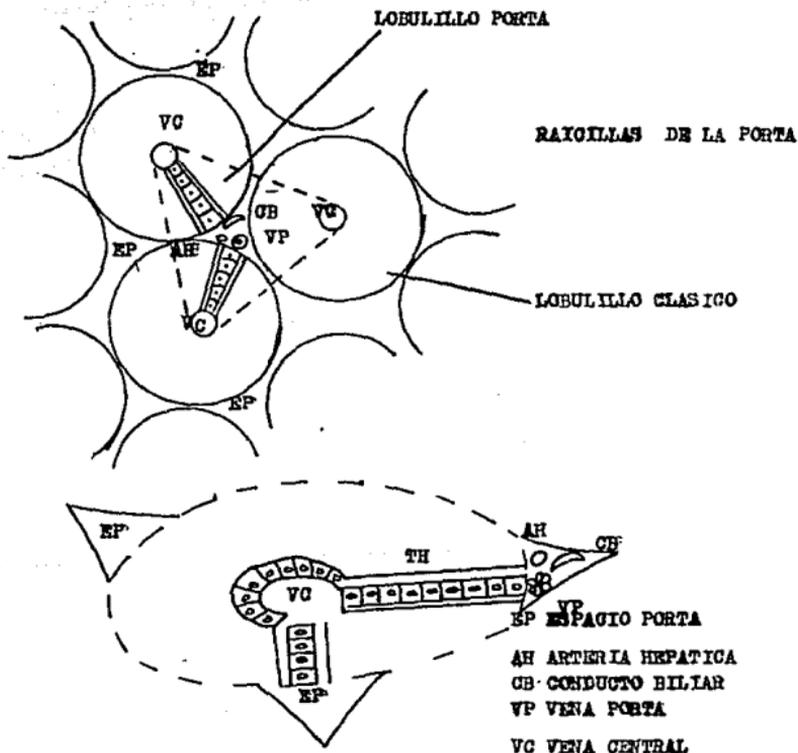


EXISTEN DE ESTA FORMA 4 VASOS PRINCIPALES QUE ATRAVIESAN EL TEJIDO HEPÁTICO DOS QUE ENTRAN :ARTERIA HEPÁTICA Y VENA PORTA;DOS QUE SALEN: LA VENA HEPÁTICA Y EL CORDÓN BILIAR. (24,27).

II.3. Microscopía Hepática

El hígado está formado de células polihédricas nucleadas su protoplasma contiene gran número de enzimas. Masas de estas células forman los lóbulos hepáticos, que son de forma hexagonal llamados también acinos hepáticos (fig 4). Aproximadamente de un milímetro de diámetro y separados unos de otros de tejido conjuntivo por los que discurren las ramificaciones de los vasos que atraviesan el hígado. Las ramas de la vena porta, arteria hepática y los conductos biliares están estrechamente unidos por una cubierta de tejido conjuntivo, denominada cápsula de Glisson, que forma los canales portales, la sangre de la vena porta se halla en íntimo contacto con las células hepáticas; cada lobulillo presenta una red de sinusoides sanguíneos o capilares hepáticos. Los pequeños vasos que pasan entre los lobulillos hepáticos se denominan venas interlobulillares. De estos se forman los capilares que se ramifican en el interior de los lobulillos y se unen para formar una pequeña vena en el centro de los lobulillos las venas intralobulillares; estos vasos vierten su contenido en otras venas sublobulillares, que se unen y forman finalmente varias venas hepáticas que pasan directamente a la vena inferior. (24,33,39,44,78).

FIGURA 4. ESQUEMA DE LA ARQUITECTURA HEPATICA



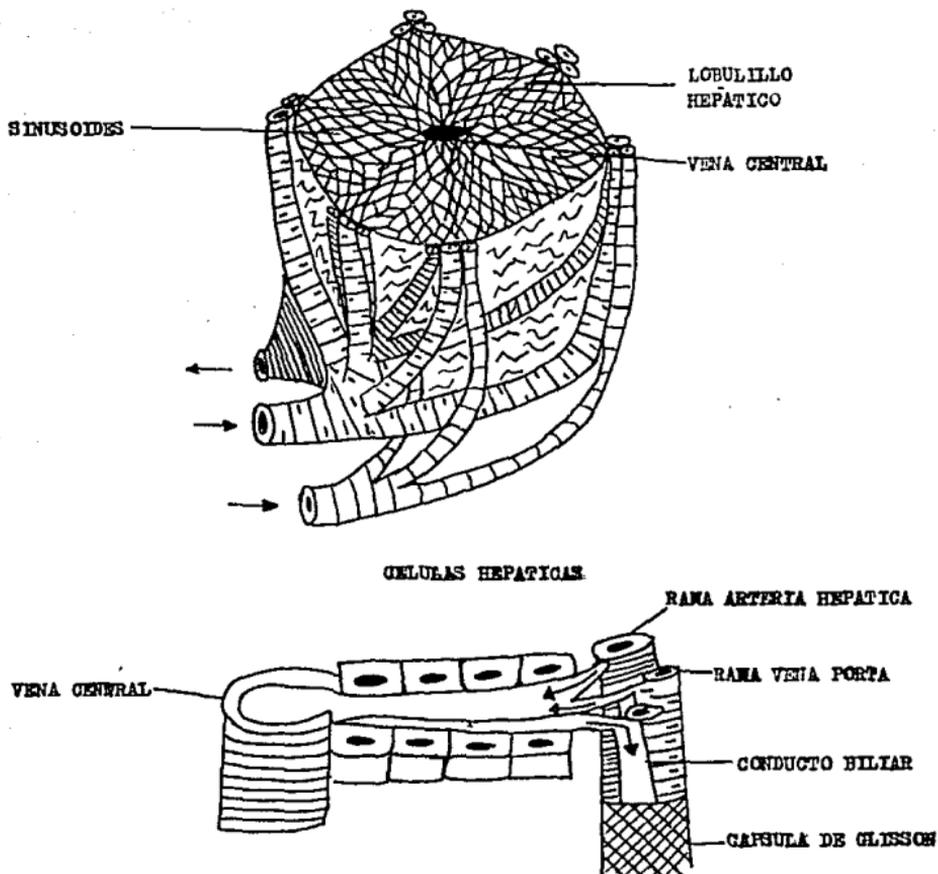
ESQUEMA QUE ILUSTRAS EL CONCEPTO DE LA CÉLULA HEPATICA FORMADA DE UNIDADES ESTRUCTURALES DENOMINADAS ACINOS. PARA QUE PUEDA COMPARARSE LA RELACION DE LOS ACINOS CON LOS LOBULILLOS CLASICOS, ESTÓS SE HALLAN DELINEADOS EN EL ESQUEMA. (24).

II.4. Lobulillo Hepático

La unidad anatomofuncional del hígado recibe el nombre de lobulillo hepático, que está formado por la vena central y varios espacios porta en la periferia, los cuales se unen en forma imaginaria para formar un hexágono (FIG. 4). Se ha propuesto que lo más cercano a la realidad es aquello en lo cual la parte central no fuera la vena centrolobulillar (vena central), sino el espacio porta al cual llega la secreción biliar de tres células adyacentes, adquiriendo una estructura triangular de venas y el espacio porta denominado también espacio de Kierman. La circulación portoarterial drena hacia las venas lobulillo mencionadas. A esta estructura se le ha nombrado lobulillo portal y tiende a ser una estructura más funcional desde el punto de vista circulatorio. Fig 5. (24).

Las células lobulillares se encuentran rodeadas por capilares sinusoides, vasos sanguíneos y conductos. Los sinusoides están revestidos por células fagocíticas - las células de Kupffer -, las cuales engloban y lisan a las células parenquimatosas, siendo metabolizadas. Los metabolitos y los desechos son segregados en la vena central o en los canaliculos biliares para ser recogidos en el conducto hepático y almacenados en la vesícula biliar o en los vasos linfáticos, los cuales llevan el líquido intersticial del hígado hacia la circulación linfática general. (2, 12, 20, 24, 33).

FIGURA 5. LOBULILLO HEPATICO VISTO AL MICROSCOPIO



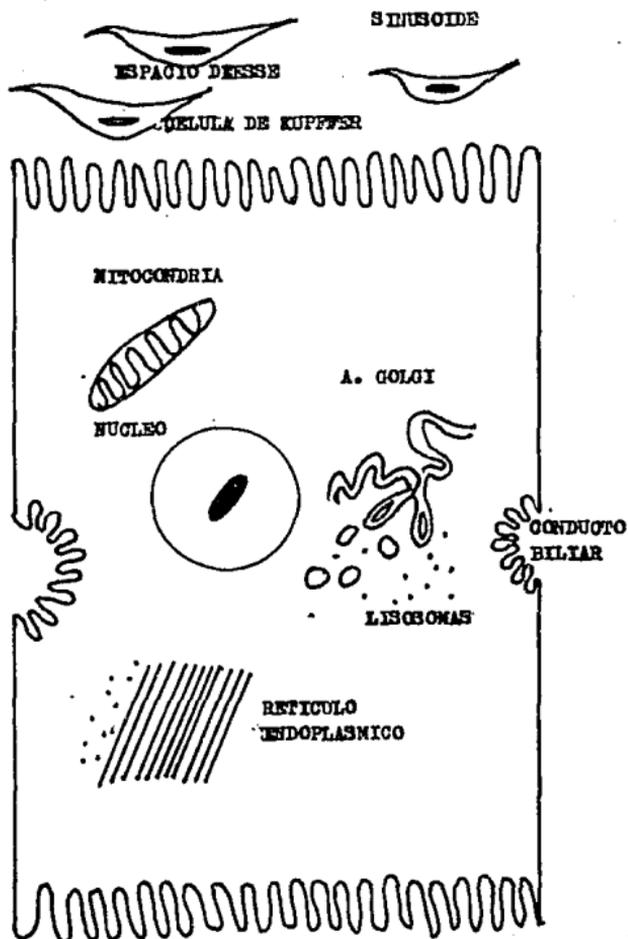
SE PUEDE OBSERVAR LA CIRCULACION QUE VA DE LA ARTERIA HEPATICA Y LA VENA PORTA A LA VENA CENTRAL. EL CONDUCTO BILIAR QUE SALE, ASI COMO LAS CELULAS ACORDONADAS DE LOS SINUSOIDES HEPATICOS. (24).

II.4.1. Hepatocito

La estructura subcelular de las células parenquimatosas, del hepatocito, corresponde al de una célula relativamente indiferenciada. Esta célula poligonal se encuentra limitada por una membrana celular que rodea a un citoplasma con un núcleo, mitocondrias, aparato de golgi, lisosomas, retículo endoplásmico y vacuolas. Estas células están capacitadas para síntesis proteica metabolismo energético, transporte, secreción, almacenamiento y otras reacciones catabólicas generales como conjugación e hidroxilación. Por lo que estas células son responsables de la mayor parte de la función metabólica hepática. También tiene la capacidad de destoxificar al organismo de los xenobióticos (células extrañas al organismo) y en la secreción de los productos metabólicos finales como bilirrubina, amoníaco y urea. (33,39).

Los estudios del hepatocito se han acompañado de estudios de microscopía electrónica con el fin de que sirvan de base a una morfología dinámica y funcional que como veremos adelante es utilizado también para conocer una patología celular. (2,33,45). fig.6.

FIGURA 6. ESQUEMA DEL HEPATOCITO



SE INDICAN LOS DIFERENTES ORGANELOS DE LA CELULA(2).

II.5. Función Hepática

El hígado ha sido designado como el laboratorio del organismo, gracias a la diferenciación celular que ha traído como consecuencia que los distintos órganos y tejidos tengan funciones específicas y en ellos se lleven a cabo procesos metabólicos determinados. En el hígado tiene lugar varias reacciones químicas y algunas de ellas sólo se llevan a cabo en dicho órgano.

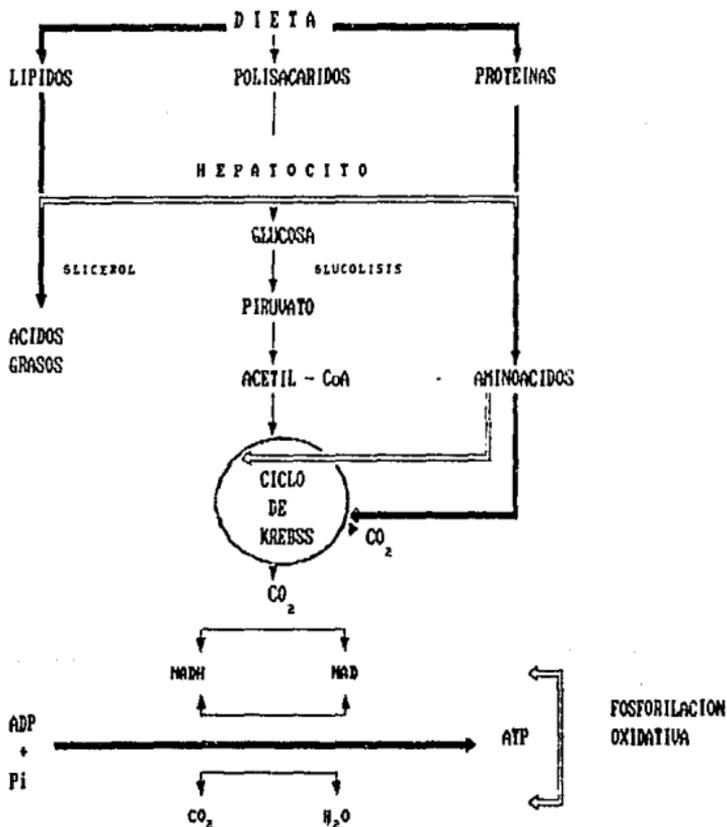
Como ya se mencionó anteriormente, este órgano recibe gran acervo de metabolitos provenientes tanto de circulación sistémica por medio de arteria hepática como del sistema portal, en esencia recibe todos los nutrimentos que resultan de la digestión y absorción de los materiales de ingesta, metabolitos que al llegar al hígado son sujetos a numerosas reacciones químicas que los conducen a la formación de compuestos de elevado peso molecular (procesos biosintéticos), o bien, son degradados hasta material de desecho como CO_2 y agua, que son vertidos nuevamente a circulación para su eliminación.

En el hígado existen las enzimas que integran las vías metabólicas, el esquema glucolítico que lleva la glucosa y glucógeno hasta la transformación de ácido pirúvico y láctico; la glucoogénesis o sea, la síntesis de glucógeno hepático; la gluconeogénesis que transforma en glucosa, sustancias que no son

originalmente hidratos de carbono; la lipogénesis que destruye ácidos grasos a fragmentos de dos carbonos en forma de acetil CoA la lipólisis que es el proceso contrario; el ciclo colateral de los fosfatos de hexosa vía oxidativa que produce pentosas. la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos y la degradación de estos polímeros; ciclo de los ácidos tricarboxílicos que es donde concurren diferentes metabolitos provenientes del material de diferente estirpe (proteínas, hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos), para ser oxidados hasta CO_2 y agua, la energía liberada durante este proceso oxidativo se utiliza en la síntesis de moléculas de alto contenido de energía, trifosfato de adenosina (ATP), que se consume en procesos biosintéticos. (12,19,20,23,36,47,50). FIG.7.

Por todas estas transformaciones se forman metabolitos intermedios que son utilizados para construir el material propio de la célula, además la energía contenida en los enlaces químicos es parcialmente captada e invertida en la síntesis de moléculas que más tarde la ceden en los procesos que la requieren.

FIGURA 7. ESQUEMA DEL METABOLISMO INTERMEDIO DE LOS DIFERENTES NUTRIENTES



LOS NUTRIENTES LLEGAN AL HIGADO POR CIRCULACION SISTEMICA APARTIR DE LA DIETA DONDE SON METABOLIZADOS (53).

II.6. Procesos Anabólicos y Catabólicos Particulares del Hígado

II.6.1. Síntesis de proteínas plasmáticas

La albúmina fijadora de tiroglobulina TGB, prealbúmina fijadora de tiroglobulina TGBP, síntesis de seroalbumina, factores de coagulación y de muchas otras proteínas que existen en el plasma que se realizan en el hígado. Estas proteínas tienen importantes funciones en el mantenimiento de la presión oncótica del plasma, en el transporte de metabolitos específicos; como es el caso de la hormona tiroidea secretada por la tiroides que es transportada por la tiroglobulina y por la prealbúmina fijadora de la tiroxina hasta las células blanco. Así como también desempeñan un papel importante en la coagulación de la sangre. (2,74).

II.6.1.1. Globulinas

Las globulinas alfa 1 y alfa 2 y las reacciones beta como el fibrinógeno son sintetizadas exclusivamente en las células hepáticas.

Las gama globulinas es el producto del sistema reticulo endotelial, en condiciones normales, las células de kupffer no parecen ser especialmente activas a este respecto siendo superadas por las células reticulo endoteliales del bazo y de la médula ósea. En circunstancias patológicas su actividad productora de gamaglobulinas aumenta considerablemente.

Las alfa 1 globulinas mucoproteínas y glucoproteínas tienden a aumentar en las enfermedades febriles agudas, algunas neoplasias y cuando disminuye la concentración de la albúmina.

Las alfa 2 globulinas contienen lipoproteínas y se acumulan cuando los lípidos aumentan en la sangre. Las gamaglobulinas contienen la mayor parte de los anticuerpos y se eleva en las infecciones crónicas y en las proliferaciones reticulo endoteliales. (2,9,38,79).

II.6.1.2. Factores de coagulación

En el proceso normal de la coagulación intervienen numerosos factores de índole proteica de los cuales por lo menos los siguientes son sintetizados en el hígado: protrombina (factor II), componente tromboplásmico del plasma, factores séptimo, décimo y fibrinógeno (factor I). Es por ello que el mecanismo de coagulación puede estar seriamente afectado en casos de

insuficiencia hepática durante la cual además existe aumento de la actividad de las enzimas fibrinolíticas. Con esta prueba sólo se reflejan las alteraciones en la segunda fase del mismo. (10.39).

2.6.1.3. Enzimas

Muchas enzimas son sintetizadas por el hígado; su deficiencia puede causar importantes alteraciones en el funcionamiento hepático como: la fosfatasa alcalina y la gama-glutamil transferasa y otras.

II.6.1.3.a. Fosfatasa Alcalina

En realidad esta enzima pertenece a un grupo de enzimas que hidrolizan a los monofosfatos esterificados a un pH alcalino, en el suero se encuentra aumentada cuando existe la obstrucción biliar y, en un grado menor, cuando las células hepáticas están lesionadas. El mecanismo exacto a estos cambios aún no ha sido aclarado. Estudios en cortes histológicos de hígado han demostrado fosfatasa alcalina en los sitios donde hay estancamiento biliar. (10.39.74).

II.6.1.3.b. Gama glutamil Transferasa (GGT)

La gama glutamiltransferasa (GGT) es una enzima situada en las membranas del hepatocito que desempeña un papel importante en la reabsorción de aminoácidos formados a partir del filtrado glomerular o en el lumen intestinal. Aunque la actividad de la GGT es más elevada en el tejido renal, esta enzima se aumenta en presencia de una enfermedad hepática. La GGT sérica se eleva antes que otras enzimas hepáticas como ocurre en la colecistitis aguda, pancreatitis aguda y subagudas y neoplasias múltiples con metástasis hepáticas. (2,39).

II.6.1.3.c. Albúmina

Fundamentalmente se considera que la albúmina es sintetizada en el hígado. El recambio de albúmina en individuos normales es de 17.2 +/- 2.7 g diarios. De acuerdo con las circunstancias metabólicas, la albúmina es formada a partir de aminoácidos (a.a) procedentes directamente de la digestión proteica o de los depósitos hepáticos de los mismos. La síntesis de la albúmina está disminuida en las enfermedades difusas del hígado, como la cirrosis hepática, en la cual el recambio desciende a 11.2 +/- 2.7g por día. (10,28,74).

II.6.1.3.d. Angiotensinógeno

El angiotensinógeno es una sustancia proteica sintetizada exclusivamente por el hígado. gama -2 globulina que contiene 13 % de carbohidratos y tiene un peso molecular de 60,900, es sintetizada en el hígado y es llamada angiotensinógeno o sustrato de la renina que tiene gran importancia en la regulación de la presión arterial y en algunos aspectos del equilibrio hidroelectrolítico. (2,50).

En la insuficiencia hepática terminal, la síntesis de angiotensina disminuye, lo cual contribuye al colapso vascular observado en estos pacientes.

II.6.2. Biosíntesis de la Urea

Los animales ureotélicos, es decir aquellos que han desarrollado el hábito de excreción nitrogenada en forma de urea, tienen enzimas que constituyen el llamado ciclo de la urea o ciclo de la ornitina. Algunas de estas enzimas las encontramos en organismos primitivos ya que forman parte de las vías biosintéticas de la arginina. (24,29,38,50).

II.6.3. Síntesis de la Creatinina

Este proceso es de gran interés para ilustrar como la diferenciación celular impone que los distintos órganos y tejidos trabajen en estrecha cooperación. La creatinina se forma en el hígado por metilación de la glicociamina o ácido guanido acético, metabolito que resulta de una reacción de transaminación entre arginina y glicina que tiene lugar en el páncreas y en el riñón. (2,20,28,47).

II.6.4. Conjugación de sustancia que van a ser excretadas

En el microsoma de las células hepáticas existen enzimas que tienen la propiedad de conjugar metabolitos que van a ser excretados por bilis, es característico de estos metabolitos que son poco solubles en agua y que al añadirse una molécula de glicina aumenta su solubilidad en este medio, lo que los hace más manejables para ser excretados. Algunas enzimas como la glucoroniltransferasa, la sulfoquinasa, las metilasas entre otras, están localizadas en los microsomas, lo que es de gran interés ya que es un sitio estratégico para vertirlos hacia el interior de los canales que forma el retículo endoplásmico. (2).

II.6.5. Funciones de Destoxificación e inactivación de Sustancias

Son numerosos los procedimientos por medio de los cuales el hígado puede destoxificar o inactivar las diversas sustancias tóxicas procedentes de los tejidos o del tubo digestivo. Los de mayor importancia son:

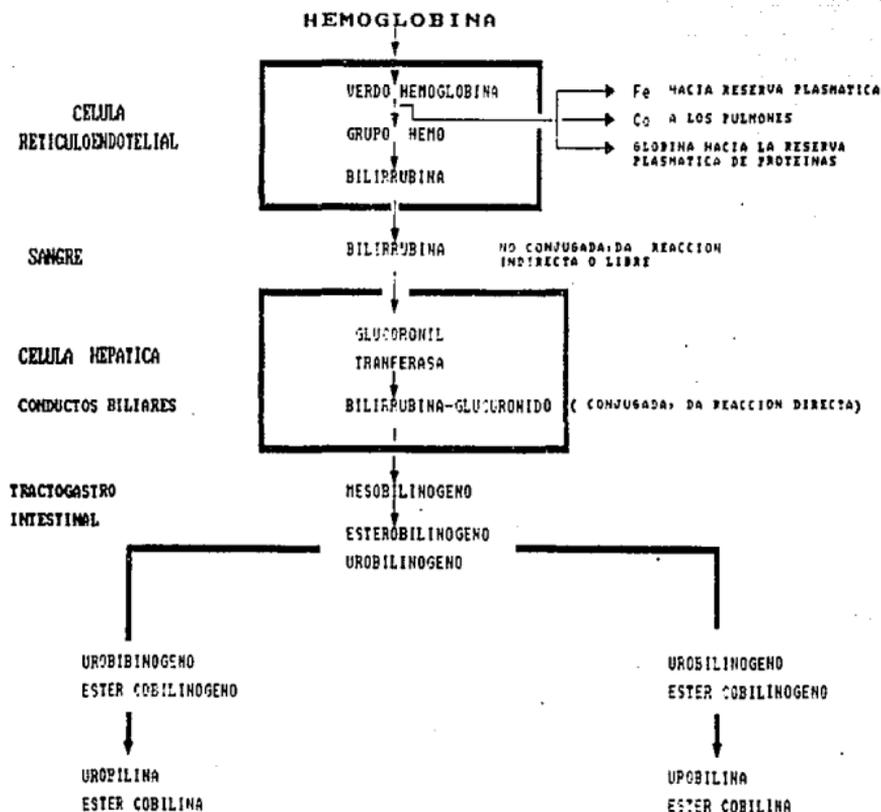
- 1) destoxificación de amoníaco, o bien, biosíntesis de la urea. (30).
- 2) conjugación de bilirrubina libre procedente de la degradación de la hemoglobina de eritrocitos al término de su vida, ésta es una sustancia liposoluble, no excretable por el riñón, ni por el hígado, con afinidad por el sistema nervioso central (SNC), sobre todo cuando es inmaduro y capaz de producir lesiones neurológicas irreversibles cuando alcanza niveles elevados 20% por un tiempo prolongado. En el hígado la bilirrubina libre es conjugada con ácido glucurónico y con sulfato activo y transformada en bilirrubina conjugada hidrosoluble, excretable fácilmente y con poca afinidad por el SNC. (2,24,28, 36,47,50). Las reacciones de conjugación son mediadas por la glucoronil transferasa.

Una pequeña parte de la bilirrubina libre es conjugada con otras sustancias como lo muestra la fig.8.

El ácido uridindifosfatoglucurónico procede directamente de la glucosa y es sintetizado en el momento de su utilización ya que es un compuesto de alta energía gracias a sus ligaduras fosforadas procedentes de los fosfatos de hexosa que lo anteceden. Inicialmente se forma monoglucurónido de bilirrubina.

La suma de ambos glucurónidos constituye la bilirrubina conjugada. La formación de monoglucurónido de bilirrubina puede llevarse a cabo tanto en el hígado como en otros tejidos tales como el intestino, el riñón, cerebro y otros órganos. El glucurónido de bilirrubina es formado en el hígado exclusivamente. (2,20,24,50).

FIGURA 8. VIAS CATABOLICAS DE LA HEMOGLOBINA



LA FIGURA NOS MUESTRA COMO SE DEGRADA LA HEMOGLOBINA EN SUS DIFERENTES METABOLITOS EN SU PASO POR EL HIGADO PARA SER EXCRETADA (38).

II.6.6. Metabolismo de lípidos

II.6.6.1. Síntesis y Secreción de colesterol

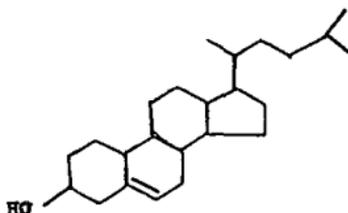


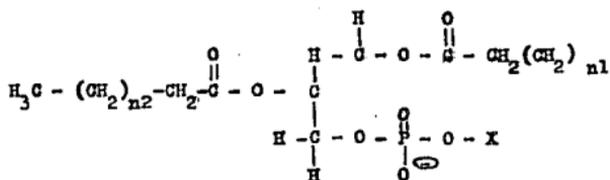
FIGURA 9. FORMULA DEL COLESTEROL

El colesterol es una sustancia esteroide que existe en el organismo ya sea , como alcohol libre o esterificado con ácidos grasos. El hígado sintetiza colesterol a partir de compuestos hidrocarbonados pequeños especialmente acetato. Además, lo esterifica y lo almacena, tanto el alcohol como ésteres procedentes del intestino.

El hígado también es el principal sitio de degradación del colesterol. Este órgano excreta por la bilis los ácidos biliares derivados del colesterol, junto con pequeñas cantidades de este metabolito libre. Es secretado a sangre para ser utilizado como transportador de ácidos grasos y como precursores de hormonas y otras sustancias esteroideas.

Aun cuando el hígado es la fuente principal de colesterol, su nivel sérico está influido por numerosos factores tales como: la edad, dieta, hormonas, fosfolípidos, ácidos biliares, proteínas, etc. (2,10,17,24,36,39,47,50).

II.6.6.2. Fosfolípidos



X= colina, etanolamina, serina, etc.

FIGURA 10. ESTRUCTURA GENERAL DE LOS FOSFOLÍPIDOS

Los fosfolípidos constituyen el gran grupo de sustancias heterogéneas que son solubles en solventes orgánicos que contienen fosfatos y forman parte de todas las células. El hígado es el lugar principal de su síntesis y su almacén. La dieta suministra los fosfolípidos plasmáticos y son excretados por la bilis.

Es probable que las grasas movilizadas de otros tejidos tengan que ser transformadas en fosfolípidos antes de poder ser utilizadas. Por otro lado, el colesterol es mantenido en solución por los fosfolípidos (2,39,7,50).

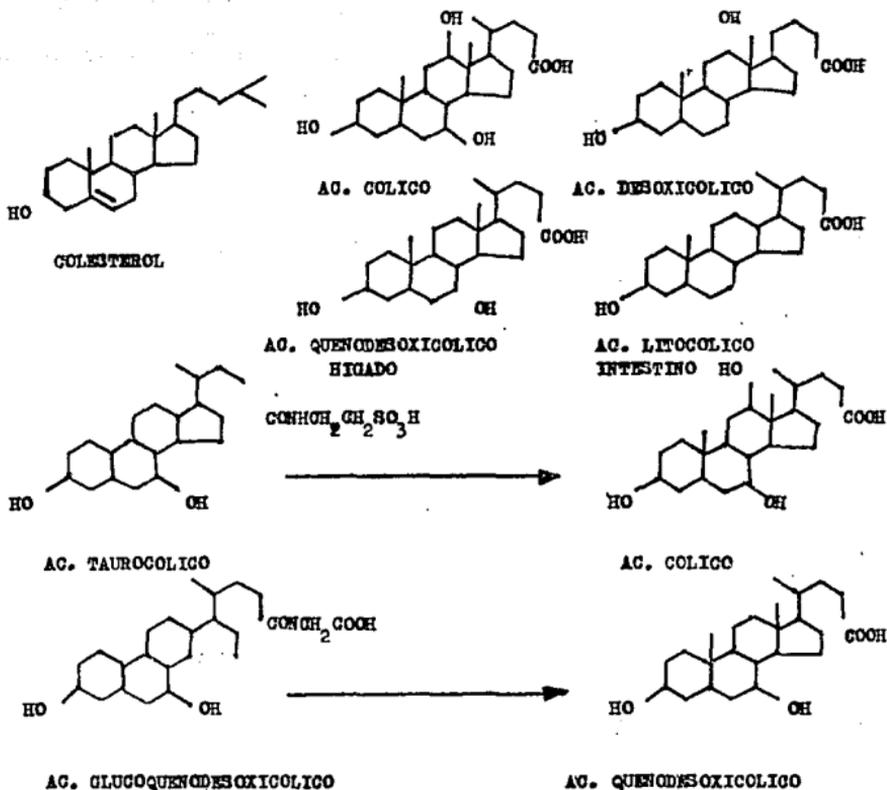
II.6.7. Ácidos y Sales Biliares

Los ácidos biliares son sustancias esteroideas, la diferencia entre ellos depende del número y posición de grupos hidroxilos en esta estructura. El ácido biliar predominante es el ácido cólico y después el quenodesoxicólico y el desoxicólico. fig.9.

Habitualmente, se presentan conjugados con glicina y taurina bajo la fórmula de ácido glicocólico y taurocólico o sus sales: glicoquenodesoxicólico y tauroquenodesoxicólico. Se forman en el hígado a partir de precursores como el colesterol.

Las sales biliares son conjugadas, emulsifican las grasas intestinales y mantienen soluble colesterol de la bilis. (39,50,54,68,70).

FIGURA 11. ESTRUCTURA DEL COLESTEROL Y ACIDOS BILIARES



A) ESTRUCTURA DEL COLESTEROL Y ACIDOS BILIARES

B) ACIDOS BILIARES Y SU CONJUGACION POR BACTERIAS (36).

III.PATOLOGIAS DEL HIGADO

III.1. Generalidades

El hígado es un órgano muy importante en el metabolismo ya que desempeña muchas y variadas funciones, también suele ser susceptible a fármacos, virus, etc. Por lo que sufre daños o trastornos que provocan alteraciones en sus funciones. Algunas de las patologías que presenta se mencionan en el cuadro 1.

CUADRO 1.

<u>PATOLOGIA</u>	<u>O R I G E N</u>
HEPATITIS VIRICA	Infección hepática producida por el virus de la fiebre amarilla, herpes simple, citomegalovirus CCl ₄ , fosforo y alcohol. 4 (9,25,44).
HEPATITIS POR FARMACOS	CCl ₄ fosforo y etanol.(2,25). 4
HEPATITIS CRONICA	Es un proceso inflamatorio prolongado causado por medicamentos, virus, etc.(2,25,39).
CIRROSIS HEPATICA	Presenta un hígado duro, pétreo que con frecuencia se asocia a la hidropesía.(2,25,33,39).
ALTERACIONES POR ETANOL(ETOH)	El etanol juega un papel importante en las alteraciones hepáticas, causadas por la dosis, susceptibilidad individual y la duración de ingesta.(2,7,9,61,67,75).
CIRROSIS BILIARES	Existen 2 tipos: biliar primaria (es muy tardía la aparición del cuadro), secundaria (ictericia obstructiva extrahepática crónica).(9,25).
HEMOCROMATOSIS	Es un síndrome anatomoclínico que consiste en un depósito generalizado de hierro debido a trastornos en el metabolismo de este metal.(9,10,25).

PATOLOGIA

O R I G E N

ABSECESOS HEPATICOS	Consiste en una supuración hepática circunscrita, única o múltiple de origen bacteriano. (33,37).
PARASITOSIS HEPATICA	Producida por helmintos y protozoarios. (2,25,37).
GRANULOMAS HEPATICOS	Se define por la presencia de una lesión elemental, el granuloma presenta acción inflamatoria. (2).
TUMORES HEPATICOS	Dos tipos de cáncer primitivo según su origen: 1) carcinoma hepato celular; 2) colangioma. (2,25,39).
HIGADO CARDIACO	Alteraciones orgánicas y funcionales hepáticas que aparecen en el curso evolutivo de la insuficiencia cardíaca. (2,24).
HIGADO EN SCHOCK	Todas las causas del shock son capaces de producir trastornos hepáticos funcionales. (2).
DANO AL HIGADO Y RINON	Producida por agentes diversos que pueden dañar al hígado y al riñon al mismo tiempo. La enfermedad de Weil, septicemias por gérmenes diversos, a menudo postabort, intoxicaciones por fósforo, mercurio, CCl ₄ y amanita phalloides o medicamentos, son las etiologías más frecuentes responsables de este síndrome. (2).

PATOLOGIA

O R I G E N

ALTERACIONES HEPATICAS
DURANTE EL EMBARAZO

Aumenta la fosfatasa alcalina, el colesterol total, lípidos totales, las globulinas alfa y beta. (2,28,32).

ESTEATOSIS HEPATICA

Es la acumulación anormal de grasa en los hepatocitos, se dice que ocurre en un 25% de los individuos y es la respuesta más común del hígado a las lesiones. (2,25,51).

HIGADO EN LA
TIROTOXICOSIS

El exceso de hormona tiroidea, estimula el metabolismo del organismo en general y del hígado en particular. (2,25).

III.2. Patologías Estudiadas en esta Investigación

III.2.1. Esteatosis Hepática

La acumulación excesiva de lípidos en el hígado ha recibido una gran variedad de denominaciones: hígado graso, infiltración o degeneración grasa y esteatosis hepática, siendo esta última la que se emplea con mayor frecuencia. Los lípidos que se depositan en el interior de las células hepáticas en forma de pequeñas vacuolas son prácticamente siempre triglicéridos, recientemente, se han descrito recientemente algunos casos observados de acúmulos de ésteres de colesterol. (52).

El conocimiento de la esteatosis hepática como síndrome clínico se ha adquirido desde el empleo de la punción biopsia hepática que lo ha convertido en el método de diagnóstico habitual. Generalmente, el diagnóstico es morfológico ya que no existe una sintomatología específica de la esteatosis pura o asociada a otras lesiones hepáticas. (25,52).

Estudios realizados en 1987 por Silvino se comprueba que el sexo más afectado fue el masculino y aún más después de los 50 años. (52).

III.2.1.1. Etiología

La alteración grasa difusa del hígado a menudo distribuida por zonas, se observa en muchas situaciones clínicas:

a) AYUNO

La elevación de ácidos grasos libres circulantes en el suero, en curso de un ayuno prolongado sugiere que la causa de aparición de un hígado graso en estos casos sea la movilización de ácidos grasos libres de los tejidos adiposos hacia el hígado. (9,20,25).

b) OBESIDAD

En ciertos casos de dietas hipercalóricas e hipocalóricas puede aparecer una discreta esteatosis hepática. (42).

c) DIABETES MELLITUS

La infiltración de grasa en el hígado puede comprobarse en una proporción muy elevada de casos, tanto en la diabetes juvenil (generalmente mal controlada y con acetoacidosis), como en la diabetes estable del adulto. Su mecanismo de aparición es poco conocido y su intensidad disminuye al equilibrar la diabetes. (42).

d) TUBERCULOSIS

Gran número de infecciones crónicas y particularmente la tuberculosis pulmonar o visceral pueden determinar una esteatosis masiva, que desaparece al tratar la enfermedad casual.

(42).

e) CORTICOESTEROIDES Y ACTH

El síndrome de Cushing y los individuos tratados con dosis elevadas de esteroides durante varias semanas, aparece una esteatosis más o menos importante en relación con una movilización de ácidos grasos libres de las reservas periféricas.

(42).

f) ESTEATOSIS AGUDA DEL EMBARAZO Y POR TETRACICLINAS

Se caracterizan porque el depósito de triglicéridos se hace en forma de pequeñas vacuolas que se disponen alrededor del núcleo de las células, a diferencia de lo que ocurre en el resto de la esteatosis, en la que las vacuolas son unicelulares y desplazan el núcleo hacia la periferia.

g) SINDROME DE REYE

Es el cuadro clínico de encefalopatía con degeneración grasa de las vísceras, que afecta habitualmente a los niños. Se inicia con un cuadro gripal, de aspecto trivial, apareciendo a los dos o

tres días vomitos incohercibles con dolor abdominal. En pocas horas se instaura delirio y anomalías de conducta, con rápida progresión a un estado estuporoso y finalmente al coma. (9.25).

h) TRANSTORNOS METABOLICOS HEREDITARIOS

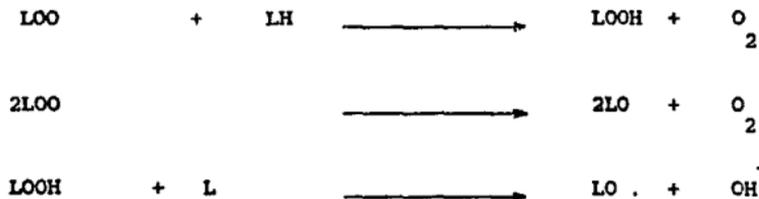
Ciertas enfermedades metabólicas hereditarias pueden coincidir de manera casual con una esteatosis hepática que no muestra ninguna influencia sobre la evolución de la enfermedad. Por mencionar alguna la galactosemia, intolerancia hereditaria a la fructosa, síndrome de Refsum, enfermedad de Wilson, etc.

i) TETRACLORURO DE CARBONO

Actualmente, la intoxicación por tetracloruro de carbono, es poco frecuente, ocasiona un cuadro de necrosis hepática de predominio centrolobulillar con esteatosis perilobulillar.

En el metabolismo del tetracloruro de carbono (CCl_4) ocurren una serie de eventos de formación de radicales libres y su neutralización como un mecanismo de protección debido a que estos radicales no pueden existir como tales en el organismo. Al entrar en el organismo el CCl_4 pasa al hepatocito, difundiendo al retículo endoplásmico y es roto homolíticamente al radical triclorometilo $\cdot CCl_3$ por un nicotinamida dinucleótido reducido (NADH) dependiente del sistema citocromo P-450. Presumiblemente,

el radical $\cdot\text{CCl}_3$ es producido en un lugar vecinal a fosfolípidos insaturados y se adicionan a su doble enlace. Después el radical triclorometilo reacciona con O_2 para formar $\text{CCl}_2\text{COO}\cdot$. La degradación del $\cdot\text{CCl}_3$ y $\cdot\text{CCl}_2\text{COO}$ con los lípidos. Los radicales lípidicos después reaccionan con oxígeno para formar radicales peróxido, los cuales inician una posterior peroxidación de otros lípidos via radical Oxi :



LOOH Lípido peroxidado
 $\text{LOO}\cdot$ Radical libre lípido peroxidado
 $\text{LO}\cdot$ Radical libre lípido oxidado
 LH Lípido reducido
 L Lípido

Estos lípidos peroxidados y radicales libres provocan en el hepatocito daños en la membrana y tal vez sea una de las causas de la necrosis presentada en la esteatosis. Tal vez, sea también uno de los factores de la inhibición de la formación de apoproteínas para la correcta formación y salida de las lipoproteínas.

Estas necrosis afectan el parenquima hepatico y túbulos renales lo que impide la excreción de lípidos y acumulación de ácidos grasos y triglicéridos en el hígado y túbulos.

Como se mencionó anteriormente, el CCl_4 difunde al hepatocito y se concentra en el reticulo endoplásmico y mitocondrias. En 1985 se reportó que el CCl_4 y el ácido valprónico actúan como un desacoplante en la fosforilación oxidativa, al tomar los electrones el radical CCl_3 , de esta forma inhibiendo la total oxidación de los ácidos grasos y glucosa.

El CCl_4 y ETOH, provocan disturbio en la actividad enzimática de LDH (lactodeshidrogenasa), aumenta GOT (glutámico oxalacético transeminasa) y aumenta también GLDH (glutamato deshidrogenasa).

Sugiriéndose inhibición de éstas enzimas. Por lo que infiere, que al atacar a las mitocondrias inhibe la producción de proteínas en ella y produce deformidades en éstas moléculas.

El tetracloruro de carbono inhibe la formación de proteínas, lipoproteínas, así como su degradación y transformación a otros productos, debido a su acción de inhibir estas enzimas y por lo tanto el metabolismo, al actuar como desacoplante en la fosforilación oxidativa y ciclo de Krebs, disminuyendo los

niveles de ATP(nucleotido trifosfato adenosina) y aumentando la formación de glucógeno.Incrementa la concentración de acetil-CoA y provoca un aumento en la síntesis de acidos grasos.

También se han dado casos de gran movilización de lípidos hacia el hígado. Los cuadros de hígado graso o bien, los efectos de esos agentes químicos, se inhiben por factores lipotrópicos como la colina y metionina.(3,15,16,21,56,59).

Los mecanismos de detoxificación del CCl_4 en el hígado utilizan el citocromo P-450 y generan radicales libres transitorios.

Estos últimos pueden iniciar una autooxidación de lípidos y conducir a una carcinogénesis.

III.2.1.2. Patología

Si el depósito de lípidos es considerable, el hígado tiende a estar muy crecido, liso y pálido. Al microscopio la arquitectura general puede ser normal. La grasa en forma de triglicéridos, tiende a aparecer como gotas grandes que establecen coalescencia y desplazan el núcleo celular hacia la periferia. En la enfermedad de Wolman, se reúnen triglicéridos con ésteres de colesterol en lisosomas que no se fusionan.(2).

La esteatosis hepática puede ocurrir por dos mecanismos: por infiltración grasa o por degeneración:

La primera es consecuencia de la movilización de los depósitos de grasa del organismo por estimulación del simpático la médula suprarenal y el trastorno en el metabolismo de los lípidos intracelulares debido a depresión en la oxidación de ácidos grasos en el hígado al disminuir de DPN (difosfato nucleotido) y ATP(adenosin trifosfato) como resultado de alteraciones en las mitocondrias y por inhibición en el mecanismo de transporte de triglicéridos fuera del hepatocito. posiblemente por daño a nivel de reticulo endoplasmico.(2).

III.2.1.3. Patogenia

El hígado ocupa el lugar central del metabolismo de los lípidos. Los ácidos grasos no esterificados (NEFA), que se absorben de la dieta o se liberan hacia torrente sanguíneo desde los quilomicrones a los sitios de depósito adiposo, constituyen un fondo común pequeño, pero que se utiliza rápidamente, que cubre casi todas las necesidades energéticas de un animal en ayunas.

Algunos NEFA son captados por el hígado para unirse al fondo común hepático de ácidos grasos libres, parte de los cuales son sintetizados por el hígado. Unos pocos NEFA hepatocíticos son

oxidados para energía pero la mayor parte se incorporan rápidamente en lípidos complejos como triglicéridos, fosfolípidos, glucolípidos, colesterol y ésteres de colesterol. Varios de estos lípidos complejos restantes pasan a fondo común activo que se utiliza para sintetizar lipoproteínas.

En su mayor parte pasan por secreción al plasma, donde proporcionan la fuente principal de lípidos para los tejidos periféricos del animal en ayunas.

La acumulación de triglicéridos en el hígado se debe a un aumento en la síntesis o disminución de su eliminación por los hepatocitos. El aumento en la síntesis de triglicéridos puede depender de un incremento de actividad de la triglicérido sintetasa o de la concentración de NEFA por mayor captación, aumentando la síntesis de acetyl-CoA o disminución de su oxidación por los hepatocitos. El decremento de NEFA puede deberse a una reducción de la hidrólisis por lipasas lisosómicas, menor secreción de lipoproteínas, o síntesis reducida de otros lípidos distintos de los triglicéridos. (2,25).

Al parecer el aumento de captación hepática de NEFA contribuye al hígado graso provocado por CCl₄, fósforo, isopropanol y varios inhibidores de la síntesis proteica. La disminución de la

oxidación de ácidos grasos puede contribuir al hígado graso producido por CCl_4 , fósforo, hipoxia y ciertas deficiencias vitamínicas (niacina, riboflavina, ácido pantoténico).

La inhibición tóxica de la síntesis de proteínas puede originar hígado graso por bloqueo de la síntesis de mRNA, o impidiendo el inicio de la síntesis de proteínas como lo hace CCl_4 y el fósforo. (2, 25, 28).

III.3. El Hígado en la Tirotoxicosis

El hígado ha servido de modelo para el estudio de los mecanismos por los cuales las hormonas producen cambios metabólicos y así se ha podido aclarar que muchos de los efectos observados por la administración de hormonas se debe a un efecto directo de la capacidad de expresión genética.

Cabe mencionar así mismo que el papel del hígado es importante puesto que no sólo responde específicamente a ciertas hormonas sino que actúa sobre alguna de ellas modificándolas, cambiando su actividad biológica. Esta serie de interacciones son las que intervienen en los mecanismos homeostáticos.

Por otra parte, se sabe que las hormonas tiroideas, triyodotironina y tiroxina (fig. 12) actúan vía receptores celulares específicos. (13,17,19,21,22,72). en células denominadas blanco y que prácticamente son todas las del organismo.

III.3.1. Tiroides

Es considerada una glándula de secreción interna o endocrina, carece de ducto excretor y vierte por ello su producto las hormonas tiroideas directamente a la sangre, todos los vertebrados la poseen. Está localizada en la parte inferior del cuello anterior respecto de la tráquea y entre los músculos esternocleidomastoideos, se encuentra cubierta por los músculos infranioideos, fascia cervical y la piel. (28,30,53). Fig.13 A.

Consta de dos lóbulos simétricos, que están adheridos a los lados de la tráquea a la altura de la laringe; entre ellos se ubica una porción denominada istmo a nivel de la línea media, es por esto que se le asemeja con una mariposa o H y es de color café rojizo. En ocasiones existe un lóbulo piramidal que se origina en el istmo, enfrente de la laringe(1). La glándula envuelve herméticamente las superficies anterior y lateral de la tráquea y laringe, y el istmo cruza la tráquea justamente por debajo del cartilago cricoide. (12,27,60). Fig. 13 A.

En un humano oscila en un rango de variación de pesos reportado de 20-30 g. y es la glándula endocrina más grande del cuerpo(1,3). Esta bien vascularizada y tiene una de las fases más altas de flujo sanguíneo por gramo de tejido entre los órganos del cuerpo. Las venas tiroideas drenan en la yugular interna.

Su inervación es de tipo autonómico:La terminación nerviosa simpática por medio del ganglio cervical superior y la parasimpática proviene del nervio vago.(3).

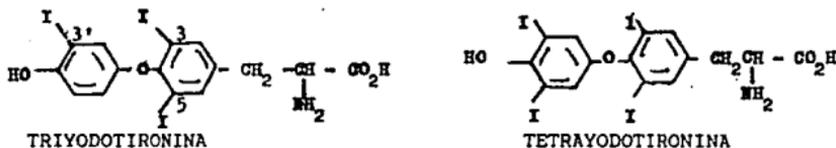
Histológicamente la tiroides contiene diminutas vesículas cerradas llamadas acini o folículos, considerados la unidad funcional miden aproximadamente 100 - 300 micras de diámetro y están revestidas por células epiteliales. La pared de cada folículo consta de células tiroideas, las cuales son cuboides y más altas a medida que aumenta su actividad metabólica y planas cuando son inactivas. Fig 13 B.

Los folículos pequeños, presentan vacuolas dentro de un coloide poco abundante los cuales están limitados por un epitelio cilíndrico que son característicos de una gran actividad glandular;el interior del folículo se halla lleno de coloide:Que es un material proteico que contiene principalmente tiroglobulina. Alrededor de las células foliculares o de soporte se encuentran las llamadas parafoliculares o células "C" de

origen neuroectodermico, que producen tirocalcitonina (hormona que provoca el depósito de calcio. (1,3,2,70,72).

Las células de soporte tiroideo (foliculares) producen las hormonas: Triyodotironina y Tetrayodotironina, también recibe el nombre de tiroxina.

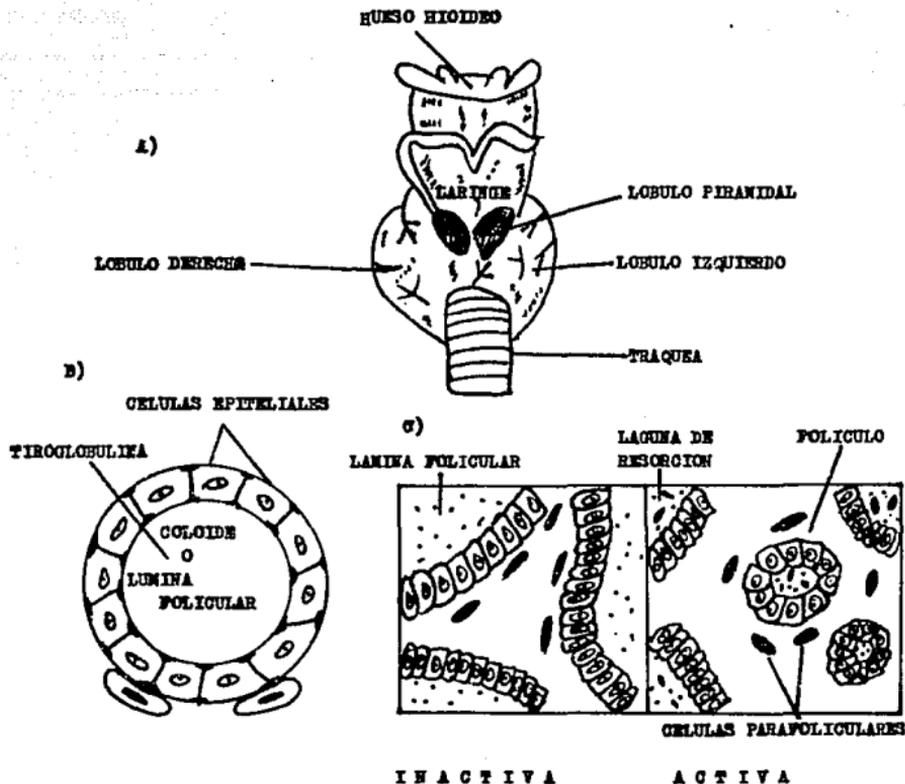
FIGURA 12. FORMULA DE LAS HORMONAS TIROIDEAS



Ambas hormonas derivan de un a.a., como es la tirosina, siendo las hormonas causantes de las funciones más importantes de la glándula tiroides, entre las que se mencionan:

- 1.- Regular el metabolismo basal.
- 2.- Estimular el consumo de O₂ de la mayoría de las células del organismo.
- 3.- Necesaria para el crecimiento y la maduración normales.

FIGURA 13. ESQUEMA DE LA GLANDULA TIROIDES



- A) MUESTRA LA POSICION ANATOMICA DE LA HORMONA TIROIDEA
 B) ESTRUCTURA DEL ACINO TIROIDEO
 C) FORMA ACTIVA E INACTIVA DEL FILICULO TIROIDEO
 (28, 29).

III.3.1.1. Regulación de la Actividad de la glándula Tiroidea

La actividad tiroidea esta bajo control maestro de la adenohipofisis y está, a su vez, por hipotálamo.

Es decir la actividad tiroidea esta regulada hormonalmente por la hipofisis anterior através de la hormona TSH (hormona estimulante de la tiroides); la cual es drenada y transportada por sangre hasta los receptores de la membrana de la célula folicular para provocar la respuesta tiroidea.

TSH es el principal regulador de la función tiroidea. El control a nivel del sistema nervioso central se ejerce por vía de la neurohormona hipotalámica liberadora de tirotrófina (TRH), la cual se une a receptores superficiales específicos (receptores de membrana proteínicos).

La hormona estimulante de la tiroides, una glucoproteína que consta de 2 sub-unidades alfa y beta, con una especificidad biológica en la subunidad beta, posee una vida media de 60 minutos y es degradada en su mayor proporción por el riñón y en menor por el hígado (21,46) tiene un peso molecular de 28 300 dalton contiene 211 residuos de aminoácidos, hexosas, hexosamina y ácido siálico: (27,60,72,87).

III.3.1.2. Mecanismo de Acción de Hormonas Tiroideas en el

Hepatocito

(CELULAS BLANCO)

Este mecanismo de acción de las hormonas tiroideas consta de varios pasos :

1) Un sistema de transporte específico en la membrana celular que tiene a su cargo en parte, la penetración de T_3 en los hepatocitos.

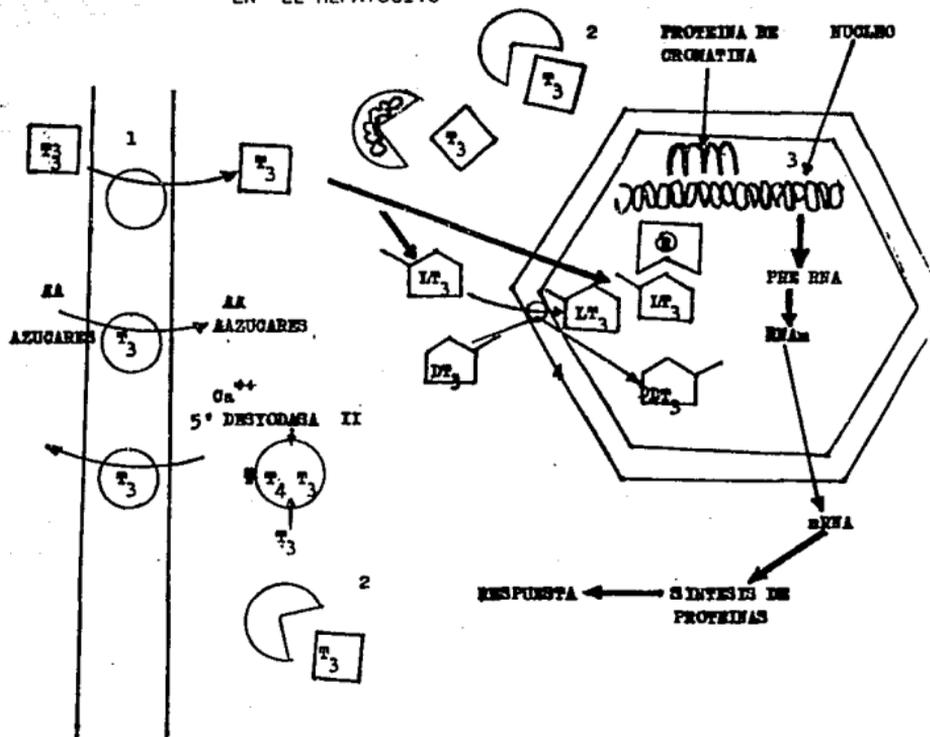
2) Proteínas fijadoras citoplasmáticas, que tienen poca afinidad y mucha capacidad de captación, fijan T_3 en el citosol. Estas proteínas fijadoras son necesarias para transportar T_3 al interior del núcleo en forma libre.

3) Las hormonas tiroideas ingresan a la célula y la T_3 , se une a receptores de núcleo. (72). La T_4 puede también unirse a receptores pero no tan ávidamente.

La T_3 se une a proteínas no histonas de la cromatina, actuando sobre DNA para aumentar la síntesis de RNAr, RNAt y El RNAm. El RNAm creado, dicta la formación de las proteínas en los ribosomas y estas proteínas inducidas por la tiroides actúan como enzimas que modifican la función celular.

4) La penetración de analogos de hormona tiroidea en el núcleo parece estar regulada por un sistema de transporte estereoespecifico en la membrana nuclear, el sistema de transporte distingue entre el L-T₃ y D-T₃ en los hepatocitos y prefiere a L-T₃. (18)Fig.14.

FIGURA 14. MECANISMO DE ACCION DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN EL HEPATOCITO



RESUMEN ESQUEMATICO DE LAS ETAPAS DE ACCION DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN LA CÉLULA BLANCO. (19,28,29)

III.3.2.3. Efectos Biológicos de las Hormonas Tiroideas

Las hormonas tiroideas (L-tiroxina y L- triyodotironina) tienen efectos variados en el organismo. Estimulan el metabolismo basal y metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.

Las hormonas tiroideas intervienen como catalizadores acelerando procesos metabólicos, y contribuyen al medio metabólico del cuerpo, aumentando el nivel de hormonas específicas, la somatostatina y la capacidad de la respuesta de otras hormonas.

Un ejemplo de la hormona tiroidea sobre la replicación celular es la disminución de la fase G₁ del ciclo celular provocada por T₃; por ello aumenta la división celular. (8,19,68).

III.3.1.4. Acción Calorigénica

T₃ y T₄ incrementan el consumo de O₂ de casi todos los tejidos metabólicos activos. Las excepciones son encéfalo en el adulto, testiculós, ganglios linfáticos, útero, bazo e hipófisis anterior. La tiroxina de hecho deprime el consumo de oxígeno de la hipófisis anterior probablemente porque inhibe la secreción de TSH (hormona estimulante de la tiroides).

La determinación del metabolismo basal es útil en el diagnóstico de las enfermedades tiroideas a pesar de que pueden presentarse variaciones debidas a factores extratiroideos (edad, sexo, temperatura, ansiedades, niveles de catecolaminas,diversas enfermedades,etc.).(49.69,72,80).

Se dice que grandes dosis de hormonas tiroideas pueden causar un ligero aumento en la temperatura corporal, lo que a su vez activa los mecanismos disipadores del calor.(53).

III.3.1.5. Efecto sobre el metabolismo y la Diferenciación

La tiroxina es uno de los factores esenciales para el crecimiento y la maduración normales, las hormonas tiroideas intervienen en el crecimiento y la maduración del esqueleto y los tejidos.

Si se extirpa la tiroides a una rata poco después del nacimiento, presenta un acentuado retraso en el crecimiento aunque no un cese total en éste. El animal vuelve a crecer normalmente si se le suministra tiroxina, siempre y cuando su hipófisis este intacta. La somatotropina (hormona del crecimiento) estimula el crecimiento del animal tiroidectomizado, pero falta la maduración normal de algunos tejidos. La rata sin hipófisis y sin tiroides no es capaz de crecer normalmente cuando se le trata con somatotropina o tiroxina por separado, pero si lo hace, si se le administra ambas hormonas.

III.3.1.6. Relación con las Catecolaminas .

Las acciones de la tiroxina y de las catecolaminas: noradrenalina y adrenalina están íntimamente relacionadas entre sí. La adrenalina incrementa la tasa metabólica, estimula el sistema nervioso central y produce efectos cardiovasculares semejantes a los causados por las hormonas tiroideas, aumentan el número y la afinidad de los receptores beta-adrenérgicos del corazón (posiblemente en otros tejidos) y los efectos de dichas hormonas en el corazón se parecen a los de la estimulación beta-adrenérgica. (5.41).

III.3.1.7. Efectos Sobre el Metabolismo General

La tiroxina tiene efectos muy diversos sobre todos los aspectos del metabolismo en el organismo vivo.

III.3.1.7.a. Metabolismo proteico .- En animales tiroidectomizados se ha observado un aumento en la retención de nitrógeno y en la síntesis proteica. El exceso de la tiroxina por el contrario aumenta el catabolismo proteico y la excreción urinaria del nitrógeno. El efecto catabólico sobre los músculos en el hipertiroidismo es muy marcado. Hay atrofia y debilidad muscular presencia de creatinina en la orina y pérdida de peso.

La movilización de las proteínas oséas en los hipertiroideos produce hipocalciuria y cierto grado de osteoporosis(1.53).

III.3.1.7.b. Metabolismo lipídico.- la tiroxina estimula la síntesis del colesterol y los mecanismos hepáticos que la extraen de la circulación, la disminución de los niveles de colesterol en sangre que ocurre con la administración de T₄ puede deberse a que la extracción hepática supera la síntesis o es secundaria a cambios en las lipoproteínas plasmáticas. El mecanismo de este efecto se desconoce pero parece ser independiente del efecto calorigénico ya que los niveles de colesterol descienden antes de presentarse un aumento del metabolismo basal.

La hipercolesterolemia es un signo constante en individuos tiroidectomizados y ha sido usado en el diagnóstico de hipotiroidismo. Por lo tanto, las hormonas tiroideas disminuyen la concentración del colesterol circulante. La concentración del colesterol en el plasma disminuye antes que aumente la tasa metabólica. (esta acción es independiente de la concentración plasmática del colesterol), es debida a un aumento en la formación de receptores a las lipoproteínas de baja densidad LBD.(1.28).

III.3.1.7.c. Metabolismo de los hidratos de carbono.-

la tiroxina aumenta la absorción intestinal de monosacáridos, acción que es independientemente del efecto calorígeno, también aumenta la conversión de glucógeno en glucosa (glucogenolisis) (37).

III.3.1.7.d. Metabolismo hidrosalino.-

la piel contiene proteínas combinadas con mucopolisacáridos, especialmente ácido hialurónico. En ratas tiroidectomizadas hay acumulación de estas mucoproteínas en la piel con retención de agua. (28,54).

El exceso de hormona tiroidea estimula el metabolismo del organismo en general y del hígado en particular, con el lógico aumento de la demanda de oxígeno. Por otra parte, se sabe que en casos particulares de patologías tiroideas asociadas con esteatosis:

1) El flujo esplénico de enfermos hipertiroideos no está aumentado paralelamente, lo que implica un déficit relativo de oxígeno con posible aparición de una lesión hepática consecutiva a la anoxia (necrosis centrolobulillar).

2) Los trastornos circulatorios propios del hipertiroidismo también desempeñan un papel, en la patogenia de la lesión hepática en forma semejante a lo que ocurre en el hígado de estasis.

Es posible observar en estos pacientes una hepatomegalia que varía de tamaño según la evolución de la enfermedad.

3) La ictericia se observa ocasionalmente, sobre todo en las crisis tireotóxicas. Los mecanismos que determinan su aparición pueden ser muy numerosos, hemolíticos tóxicos, hepatopatía latente; aunque casi siempre dependen de una insuficiencia cardíaca tireotóxica concomitante.

4) En aumento de hormonas tiroideas T_3 y T_4 , las pruebas de funcionamiento hepático suelen ser normales, a excepción de la depuración de la bromosulfaleína, que se encuentra aumentada por estar la velocidad del flujo sanguíneo incrementado cuando se presenta hepatomegalia e ictericia.

5) La biopsia por punción muestra un hígado de estructura normal, pero con esteatosis y necrosis focal. Si no existe insuficiencia cardíaca, la necrosis centrolobulillar jamás se presenta. El glicógeno hepático es normal.

Aproximadamente, el 15% de la T_3 circulante es producida por la tiroides. El resto se produce al perder un átomo de yodo del anillo externo de T_4 , también tiene lugar en zonas extrahepáticas, para proporcionar $3,3',5'-T_3$ (T_3 inversa ó rT_3).

Este compuesto tiene una actividad metabólica mínima pero existe en el suero humano normal y en la tiroglobulina. En muchos casos en los cuales disminuye la T_3 sérica: por ejemplo enfermedades crónicas del hígado y riñón, en procesos agudos y dietas pobres en carbohidratos aumentan los valores de rT_3 . (28,36).

De lo anterior, se observa que la función tiroidea y la afinidad de las hormonas T_3 y T_4 , tiene correlación con la actividad hepática.

Por lo que suponemos que si se induce o manifiesta un cuadro de esteatosis hepática por un agente hepatotóxico, con la influencia de las hormonas tiroideas en cuanto a manifestaciones esteatóticas pudieran ser nulificadas, ésta es la hipótesis postulada para este trabajo.

IV. OBJETIVOS

IV.1 . Objetivo General

Evaluar en ratas el efecto de las hormonas tiroideas sobre el funcionamiento del hígado, en la esteatosis hepática provocada por el tetracloruro de carbono.

IV.2. Objetivos Particulares

- IV.2.1. Inducir un cuadro de esteatosis hepática en ratas con CCl_4 administrado por vía intraperitoneal.
4
- IV.2.2. Protección del hígado con la administración de hormonas tiroideas L- Triyodotironina exógena por vía oral.
- IV.2.3. Observar los efectos provocados en el metabolismo de ratas esteatóticas tratadas con T_3 y no tratadas, mediante algunas pruebas específicas de funcionamiento hepático como: proteínas totales, colesterol, albúmina, bilirrubinas, fosfatasa alcalina y gamaglutamil transferasa.

V. METODOLOGIA

V.1. Material Biológico

Se utilizaron 24 ratas Wistar hembras adultas procedentes del bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1. Estas se marcaron, pesaron y distribuyeron en 5 lotes denominados A, B, C, D y E que corresponden :

lote A .4 ratas testigos no se les administró nada sólo se manipularon para tener un control. Se obtuvo sangre por punción cardiaca aproximadamente 10 ml. a las 6, 12, 18 y 24 horas.

lote B. Administración de aceite mineral via intraperitoneal (I.P) a 4 ratas dosis única 0.15ml por 100g de peso. al inicio de la experimentación. Obteniéndose sangre por punción cardiaca a las 6, 12, 18 y 24 horas post inducción. Para ver los efectos del vehículo.

lote C Administración de hormona tiroidea a 4 ratas de la presentación farmacéutica novotiral (una tableta contiene 20 mcg de liotironina sódica y 100mcg de Levotiroxina sódica via oral (V.O). cada 24 hs. Durante una semana. Posteriormente se tomaron muestras de sangre a las 6, 12, 18, 24 horas post inducción.

lote D. Novotiral via oral por una semana cada 24 horas
fué administrada a 8 ratas. Posteriormente se le administro CCl₄
al 30% en aceite mineral una sola dosis 0.15 ml /100g de peso
intraperitonealmente; se extrajo sangre a 6,12,18 y 24 hs
posterior a la administración de CCl₄.

lote E. 8 ratas tratadas con CCl₄ al 30% en aceite mineral, dosis
única de 0.15ml./100g de peso, via intraperitoneal con toma de
muestra sanguínea a las 6,12,18. y 24 hs post inducción.

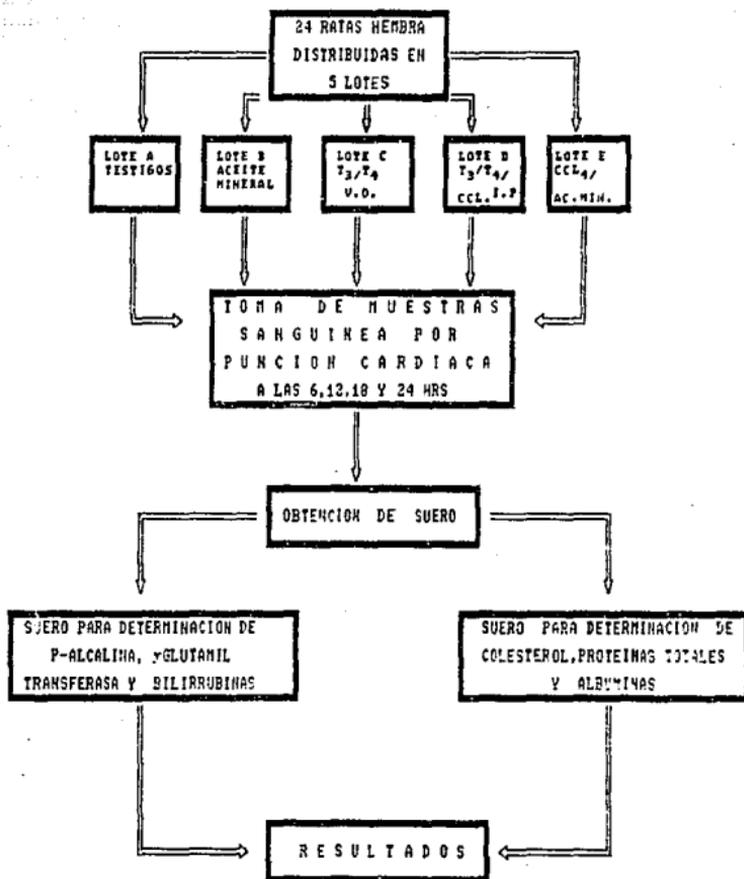
V.2. Procesamiento de Muestras

La sangre obtenida se colocó en tubos de ensaye limpios y secos, quitando la aguja de la jeringa y dejándola caer lentamente por las paredes del tubo de tal manera que se evitara la hemólisis.

Posteriormente, se colocaron los tubos en baño de agua a 37 grados centígrados por 5 minutos, centrifugándose a 2500 rpm durante 10 minutos. Extrayendo el suero con una pipeta pasteur seca y limpia, colocándolo en frascos bial debidamente identificados .

De este suero se utilizó la mitad para realizar el mismo día cuantificación de bilirrubina, gama glutamiltransferasa y fosfatasa alcalina. La otra mitad se guardo en refrigeración para trabajar conjuntamente con las demás muestras la cuantificación de colesterol, albúmina y proteínas totales.

FIGURA 15. DIAGRAMA METODOLOGICO



V.3. Pruebas de Funcionamiento Hepático Realizadas en el Laboratorio por Duplicado

V.3.1. Cuantificación de Bilirrubina
(Kit de Merk 3333)

FUNDAMENTO:

La bilirrubina forma con el ácido sulfanílico diazotado un colorante azoico que en solución neutra es rojo y en solución alcalina es azul. El glucurónido de bilirrubina hidrosoluble reacciona directamente, mientras que la bilirrubina indirecta libre reacciona tan sólo en presencia de un acelerador.

TECNICA

A).- BILIRRUBINA TOTAL

pipetear en tubos de ensaye .	problema	blanco
Acido sulfanílico	0.2 ml	0.2 ml
Nitrito de sodio	1 gota	---
Acelerador	1.0 ml	1.0 ml
Suero	0.2 ml	0.2 ml
Mezclar y dejar reposar 10 a 60 min. de 15 a 25 grados centigrados		
Solución Fehling	1.0 ml	1.0 ml.

Mezclar y medir las extinciones de los problemas al cabo de 5 a 30 minutos contra agua destilada y, en caso necesario contra el blanco.

CALCULO

Medición sin blanco:

Concentración de bilirrubina total $=(E - 0.015) \times 10.5 \text{ mg}/100 \text{ ml}$
 $=(E - 0.015) \times 180 \text{ mmol/L}$

Medición frente a un blanco:

Concentración de bilirrubina total $= E \times 10.5 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$
 $= E \times 180 \text{ mmol} / \text{L}$

B).- BILIRRUBINA DIRECTA

TECNICA

Pipetear en tubos de ensayo	problema	blanco
Acido sulfanilico	0.2 ml	0.2 ml
Nitrito de sodio	1 gota	----
Solución salina fisiológica	2.0 ml	2.0 ml
Suero	0.2 ml	0.2 ml

Mezclar inmediatamente, dejar reposar a temperatura entre 15 - 25 grados centígrados. A los 5 minutos exactos, tras la adición del suero medir las extinciones de los problemas contra el blanco. Filtro 546 nm. Espesor de la cubeta 1 cm.

CALCULO

Concentración de la bilirrubina directa = $E \times 14.0 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$
= $E \times 240 \text{ mmol} / \text{L}$

V.3.2. Cuantificación de la Gama-glutamyl Transferasa

(gama-GT)

La cuantificación de esta enzima se llevó a cabo por el kit de merk 3394 gama-GT prueba cinética.

FUNDAMENTO:

La gama-GT cataliza la transferencia del grupo gama-glutamyl ligado a un enlace peptídico aceptor. En esta prueba se mide el amino-5-nitro-2-benzoato que se separa del sustrato L-gama-glutamyl-3-carboxi-4-nitro-anilida y que absorbe a 405 nm.

El grupo gama-glutamil se transfiere a la glicil glicina. La variación de la extinción por unidad de tiempo es proporcional a la velocidad de escisión del sustrato, y por lo tanto, a la actividad enzimática.

TECNICA

Macrotécnica

Pipetear en un frasco

Solución amortiguadora 2.0 ml

Suero 0.2 ml

Mezclar y después de un minuto leer el aumento de extinción cada minuto durante 3,4 ó 5 minutos.

Leer a 405 nm espesor de la cubeta 1 cm.

CALCULO

Calcular el valor medio de las diferencias de extinción por minuto (E / min) y aplicarlo en la fórmula siguiente:

Medición a 405 nm :

Actividad enzimática = (E / min x 1158(U/L).

V.3.3. Cuantificación de la Fosfatasa Alcalina
(Kit de Merk 3304)

FUNDAMENTO:

Las fosfatasa catalizan la hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico. En función de los valores de pH a que logran su actividad óptima, se distinguen dos tipos de fosfatasa ácida y alcalina.

Para la determinación de la fosfatasa según Bessey, Lowry y Brock, se utiliza como sustrato el p-nitrofenilfosfato, que por la acción de la enzima se escinde en p-nitrofenol y ácido fosfórico.

Añadiendo NaOH que interrumpe la reacción y el p - nitrofenol liberado en la unidad de tiempo es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa.

TECNICA

Para cada análisis preparar un blanco.

Pipetear en tubos de ensaye	problema	blanco
Sustrato-amortiguador	1.0 ml	1.0 ml
Dejar 5 min en baño de agua a 37 grados centigrados		
Suero(reciente)	1.0 ml	----

Mezclar y dejar reposar exactamente 30 minutos en baño de agua a 37 grados centigrados

NaOH 0.02N	10.0 ml	10.0 ml
Suero	5.0 ml	5.0 ml

Mezclar y medir la extinción del problema contra el blanco .
Filtro entre 390 y 420 nm, espesor de la cubeta 1 cm.

CALCULO

Actividad por volumen = $E \ 405 \times 200$ (mv/ml) (.U/L)

mv = miliunidad de la enzima

V.3.4. Cuantificación del Colesterol

Esta cuantificación se realizó según el método de Liebermann - Burchard (L - B).

FUNDAMENTO:

Extracción del colesterol y reacción con ácido sulfúrico y anhídrido acético para formar un compuesto coloreado (ácido - colestahexaeno sulfónico, que tiene una absorbancia máxima a 410 nm) de color verde pardusco intenso.

REACTIVOS:

TECNICA

Pipetear en tubos de ensaye

	problema:	patrón	blanco:
Suero	0.05 ml	---	---

REACTIVOS:

Solución Etandar de colesterol: 2 mg /ml

Acido acético, glacial

Acido p-toluen sulfónico, al 12% en acético

Anhídrido acético

Acido sulfúrico concentrado

V.3.5. Extracción y Cuantificación de Albumina Sérica

Se utilizó reactivo para precipitar globulinas, que consiste en extracción mediante el método modificado de Reinhold y Kingsley (Na₂SO₄, Na₂S₂O₃, 11 ml de H₂SO₄ en agua destilada a pH de 7).
2 4 2 2 3 2 4

Se añadió a 0.5 ml de suero descongelado, a 0.75 ml del reactivo para precipitar globulinas, mezclando por inversión y separando la fase acuosa de las globulinas con 2 ó 3 ml de éter etílico, invirtiendo y centrifugando, extrayendo con pipeta pasteur la capa acuosa, en la que se encuentra la albúmina. (2,39,73).

De la fase acuosa se mide el volumen y se toma una alícuota de 0.5 ml a la que se le realizó la cuantificación de proteínas:

La cuantificación se llevó a cabo por el método de microlowry(60).

V.3.6. Cuantificación de Proteínas Totales:

FUNDAMENTO:

Es método colorimétrico debido a:

- 1) Reacción de Biuret
- 2) Reducción del reactivo de fosfomolibdeno - tungstato por aminoácidos como tirosina y trifosfato presentes en las proteínas.

REACTIVOS

Solución A. Na_2CO_3 al 2% en NaOH 0.1 N .

Solución B. CuSO_4 al 1%.

Solución C. Tartato doble de sodio y potasio al 2%.

Solución D. Mezcla de 50 ml de A con 0.5 ml de C y 0.5 ml de B.

Solución E. Reactivo de Folin Ciocalteu 1N.

Solución de albúmina 150 Mg/ml

TECNICA

A 200 microlitros de las diluciones por duplicado se les adicionó 1 ml de reactivo D, agitando y dejando reposar 10 minutos, posteriormente, se añadieron 0.1 ml del reactivo E, agitando y dejando en reposo por 30 minutos.

Dependiendo de la intensidad de color se realizaron las lecturas al espectrofotómetro a 500 nm y 750 nm (tono bajo y tono alto de color, respectivamente).

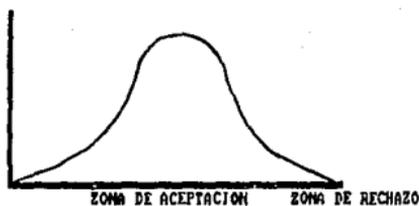
ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

VI. RESULTADOS

VI.1. Tablas y Gráficas

TABLA 1. ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA SERICA EN RATAS DATOS PROMEDIO (U/l)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	87.5	25.4	78.8	87.8
LOTE B ACEITE MINERAL	143	124.9	86.8	89.2
LOTE C T ₃	146.8	102	58.8	69
LOTE D T ₃ , CCl ₄	26	24.8	65	106.6
LOTE E CCl ₄ , AC MINERAL	78	48.3	26.2	64



$$t < t_{0.05/2} -1.833$$

$$1.833$$

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_1: \mu \neq \mu_0$$

$$s = 36.86$$

$$\bar{x} = 89.71$$

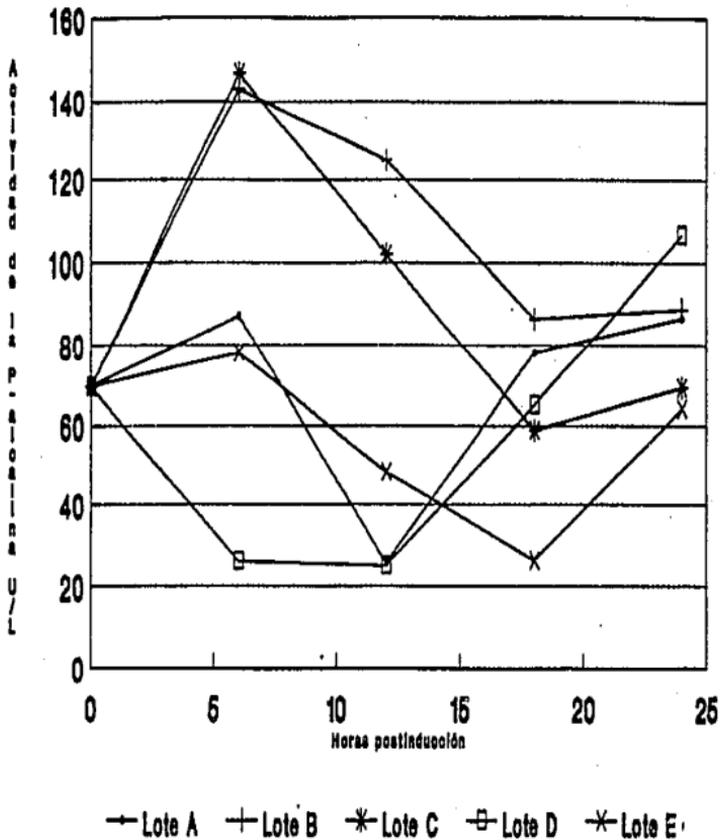
$$n = 10$$

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s / n^{1/2}}$$

$$t = \frac{89.71 - 0}{36.83 / 10^{1/2}} = 7.87$$

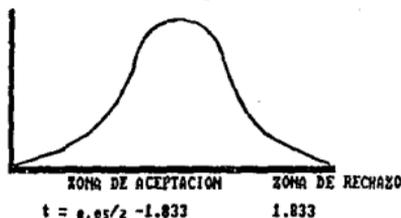
Ho se rechaza existe diferencia entre los tratamientos a los diferentes tiempos.

Figura 16. Actividad de la P. Alcalina en
en Ratas.



**TABLA 2. ACTIVIDAD DE GAMA GLUTAMILTRANSFERASA
SERICA EN RATAS DATOS PROMEDIO
(U/l)**

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	10.42	11.8	11.58	11.8
LOTE B ACEITE MINERAL	8.65	6.95	6.95	6.95
LOTE C I ₃	6.95	8.5	10.4	6.95
LOTE D I ₃ , CCl ₄	15.6	8.69	4.7	6.95
LOTE E CCl ₄ , AC MINERAL	11.6	15.6	6.95	11.58



$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$\mu = \mu_0$$

$$t = \frac{9.38 - 0}{3.175 / 10^{1/2}} = 9.34$$

No se rechaza existe diferencia entre los
tratamientos a los diferentes tiempos

Figura 17. Actividad de la γ -Glutamil transferasa en ratas.

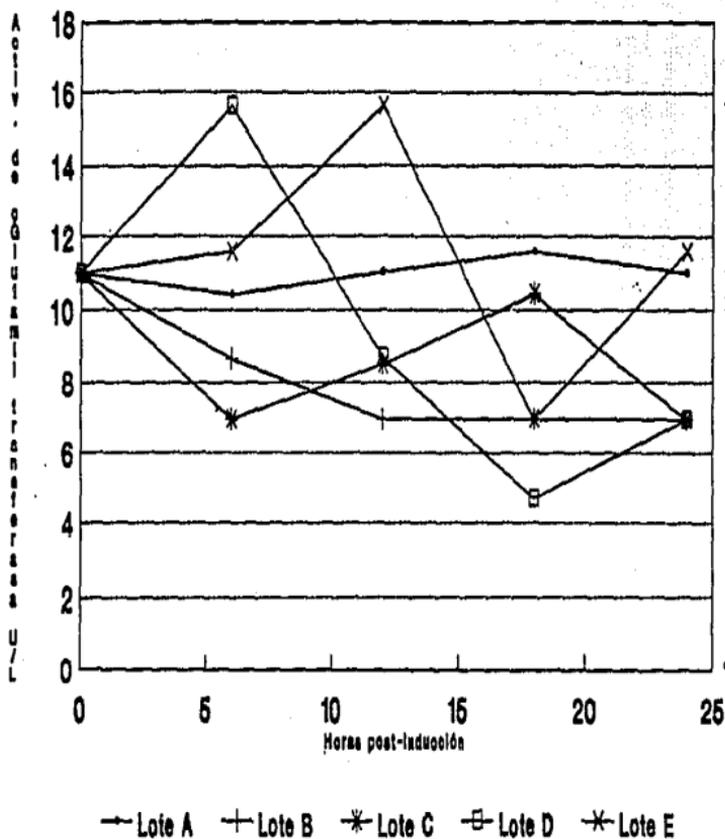
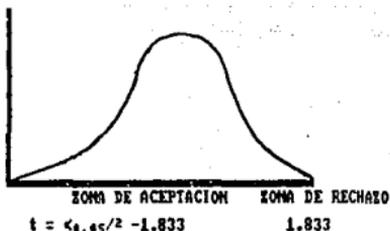


TABLA 3. BILIRRUBINA DIRECTA SERICA

EN BAYAS DATOS PROMEDIO

(mg / 100 ml)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	0.0	0.0	.014	0.0
LOTE B ACEITE MINERAL	0.0	.014	0.0	.014
LOTE C I_2	0.0	.014	0.0	.014
LOTE D T_2, CCl_4	.035	.084	.049	.014
LOTE E CCl_4, AC MINERAL	.084	.119	.054	.084



$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_a: \mu = \mu_0$$

$$t = \frac{0.0236 - 0}{0.03826 / 10^{1/2}} = 2.47$$

No se rechaza existe diferencia entre los
a los diferentes tiempos

Figura 18. Concentración de Bilirrubina directa en suero de ratas.

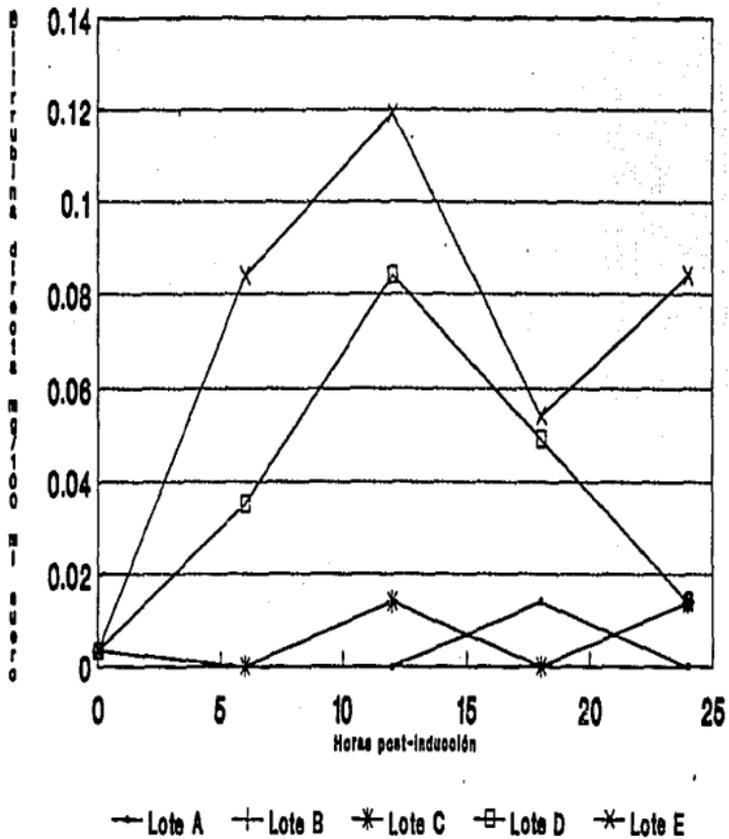
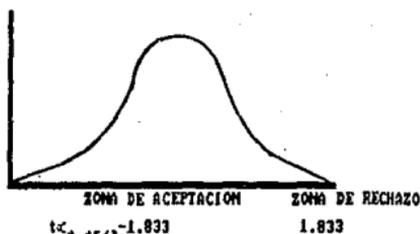


TABLA 4. CONCENTRACION DE BILIRRUBINA
INDIRECTA SERICA EN BATAS DATOS PROMEDIO

(mg / 100 ml)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	.525	.084	.059	.056
LOTE B ACEITE MINERAL	.179	.133	.116	.113
LOTE C T ₂	.158	.175	.158	.116
LOTE D T ₂ , CCl ₄	.028	.210	.226	.058
LOTE E CCl ₄ , AC MINERAL	.210	.123	.102	.210



Ho: $\mu = \mu_0$

Ha: $\mu \neq \mu_0$

$$t = \frac{0.1841 - 0}{0.135 / 10^{1/2}} = 4.31$$

Ho se rechaza existe diferencia entre los
tratamientos a los diferentes tiempos.

Figura 19. Concentración de Bilirrubina indirecta en suero de ratas.

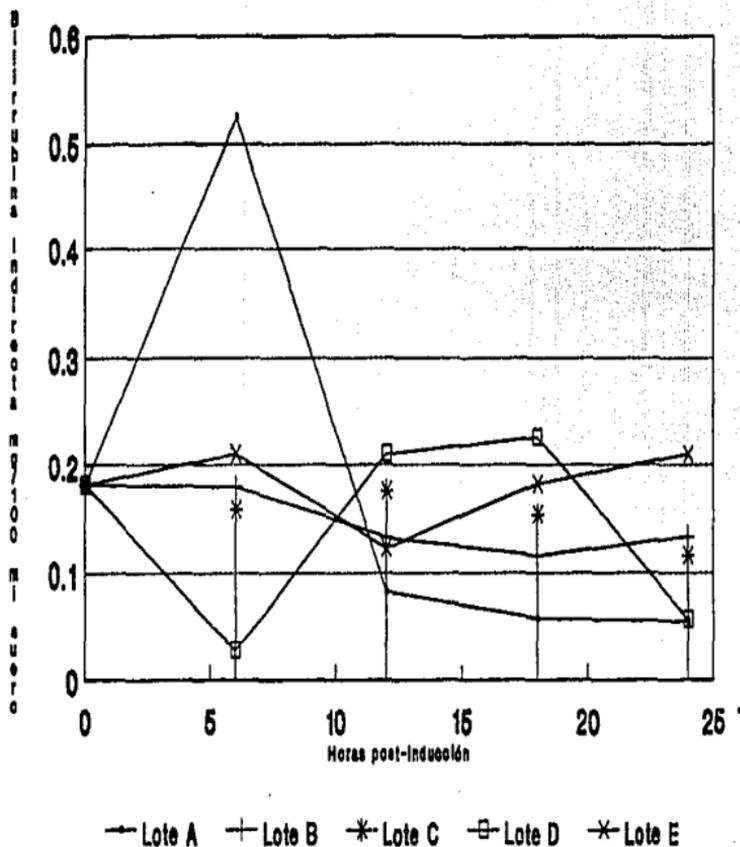
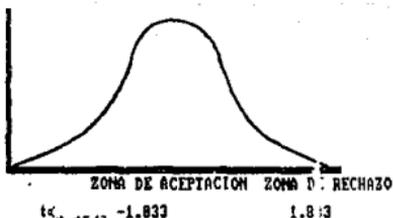


TABLA 5. CONCENTRACION DE BILIRUBINA SERICA

TOTAL EN RATAS DATOS PROMEDIO

(mg / 100 ml)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	.525	.084	.074	.052
LOTE B ACEITE MINERAL	.179	.147	.116	.147
LOTE C T ₃	.158	.189	.158	.116
LOTE D T ₃ , CCl ₄	.068	.294	.275	.268
LOTE E CCl ₄ , AC MINERAL	.294	.242	.338	.294



$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_{a1}: \mu = \mu_0$$

$$t = \frac{.2893 - 0}{.1484 / 10^{1/2}} = 4.71$$

H₀: se rechaza existe diferencia entre los a los diferentes tiempos.

Figura 20. Concentración de Bilirrubina total en suero de ratas.

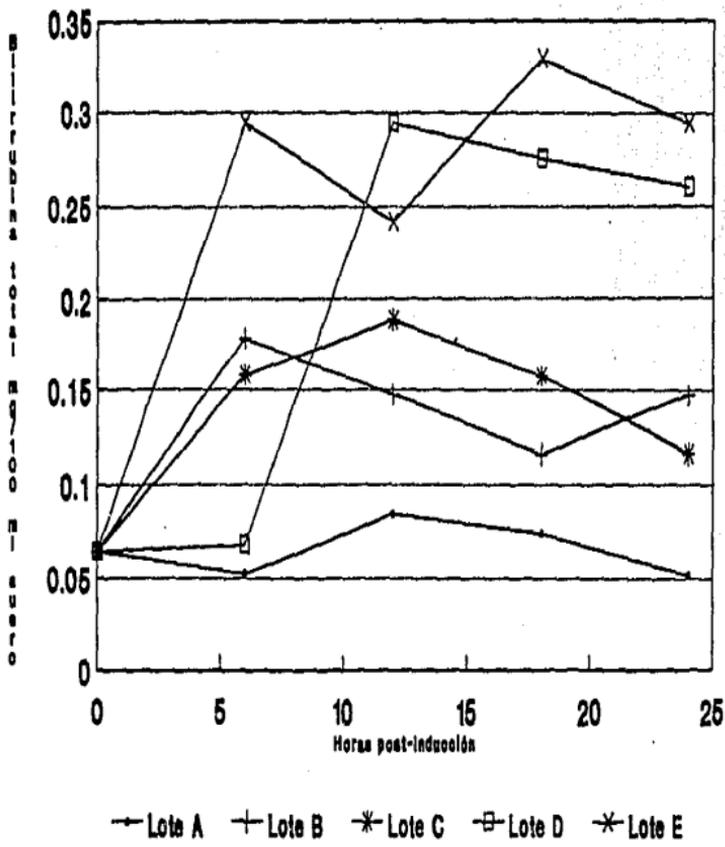
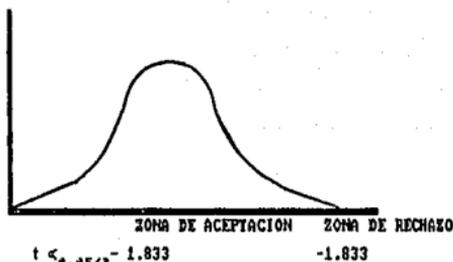


TABLA 6. CONCENTRACION DE COLESTEROL
SERICO EN RATAS DATOS PROMEDIO
(mg / 100 ml)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	96.6	97.3	98.7	95.6
LOTE B ACEITE MINERAL	101.2	108.6	130.2	110.7
LOTE C T_3	116.2	126	133.3	126.5
LOTE D T_3, CCl_4	109.3	112.3	125.6	108.6
LOTE E CCl_4/AC MINERAL	103.1	106.7	130.8	111.6



$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_a: \mu \neq \mu_0$$

$$t = \frac{115.29 - 0}{15.69 / 10^{1/2}} = 23.23$$

No se rechaza existe diferencia entre los
tratamientos a los diferentes tiempos.

Figura 21. Concentración del colesterol en suero de ratas.

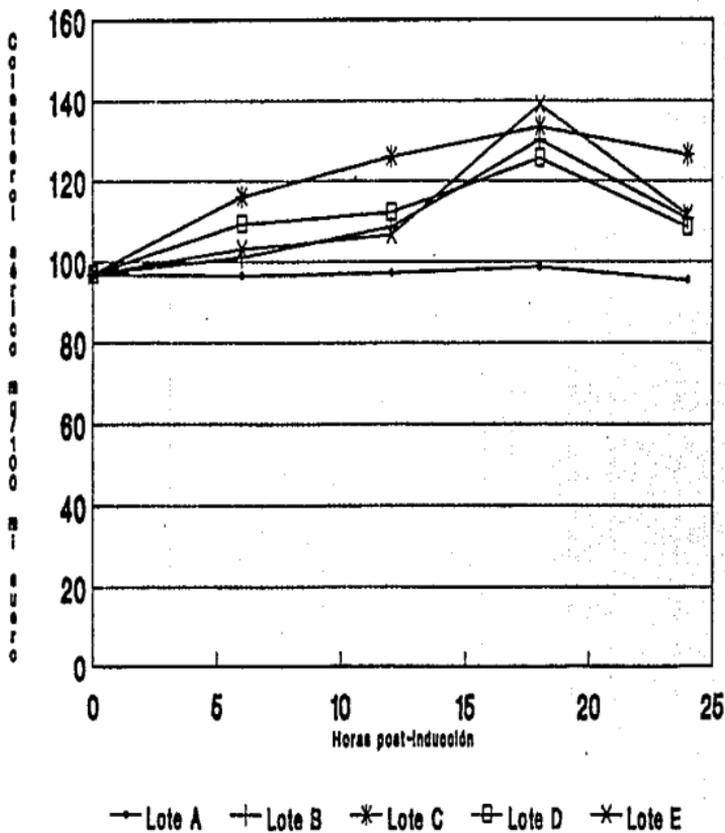
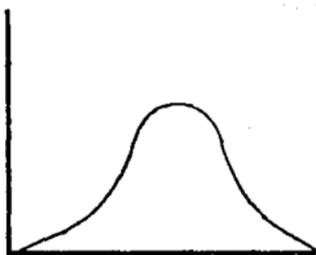


TABLA 7. CONCENTRACION DE PROTEINAS SERICAS
EN BATAS DATOS PROMEDIO
(mg / 100 ml)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	73.5	68.0	70.0	70.5
LOTE B ACEITE MINERAL	58.2	57.7	65.7	63.2
LOTE C I ₃	54.3	58.3	41.6	65.8
LOTE D I ₃ , CCl ₄	56.1	66.5	47.4	73.6
LOTE E CCl ₄ , AC MINERAL	70.1	55.6	51.2	59.6



ZONA DE ACEPTACION ZONA DE RECHAZO
 $t < t_{0.05/2} = 1.833$ 1.833

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$t = \frac{58.81 - 0}{10.69 / 10^{1/2}} = 17.34$$

Ho: se rechaza existe diferencia entre los
 tratamientos a los diferentes tiempos.

Figura 22. Concentración de Proteínas séricas en ratas.

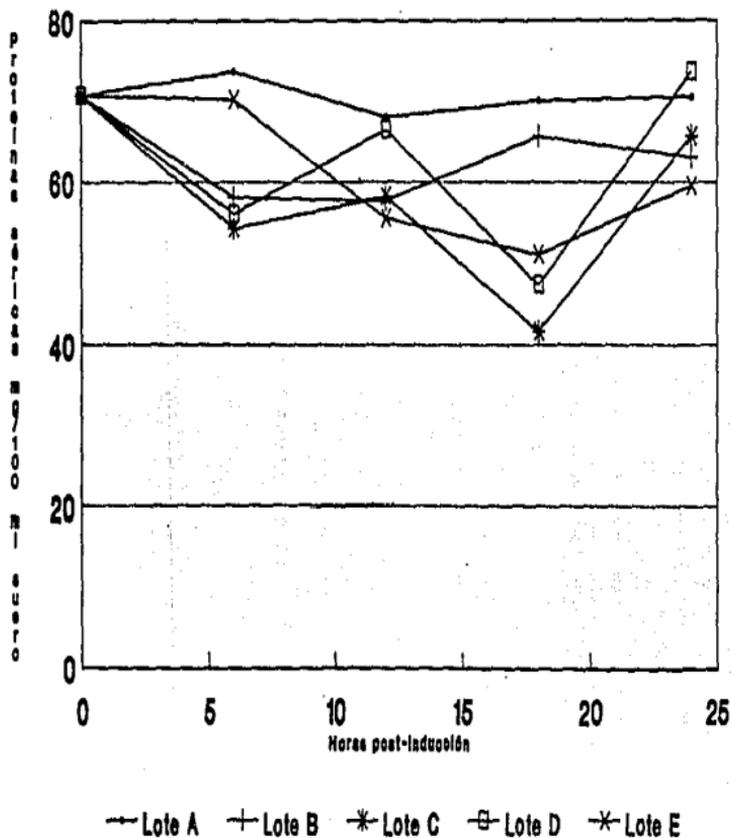
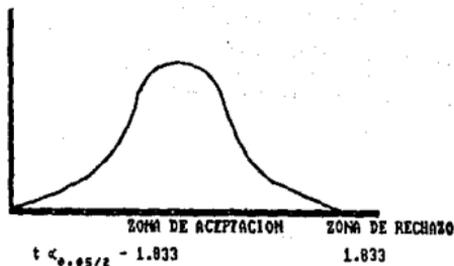


TABLA B. CONCENTRACION DE ALBUMINA
EN RATAS DATOS PROMEDIO
(mg / 100 ml)

	HORAS POST-INDUCCION			
	6	12	18	24
LOTE A CONTROL	34.8	31.8	33.7	32.8
LOTE B ACEITE MINERAL	25.7	28.6	31.3	30.2
LOTE C T ₃	24.6	28.9	28.5	29.3
LOTE D T ₃ /CCl ₄	26.6	29.9	25.1	30.9
LOTE E CCl ₄ /AC MINERAL	33.8	24.4	28.6	25.3



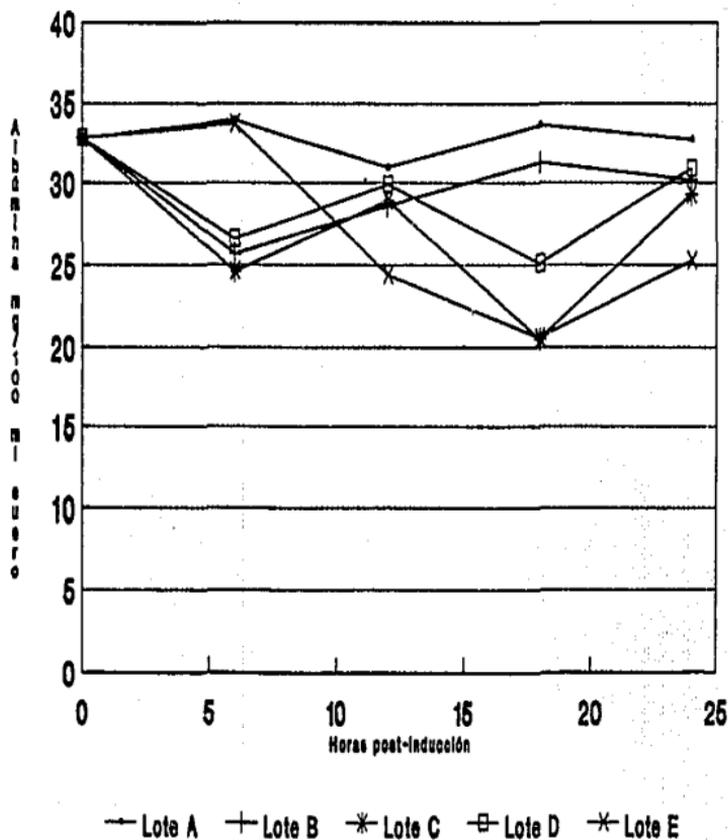
$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_1: \mu \neq \mu_0$$

$$t = \frac{61.35 - 0}{8.84 / 10^{1/2}} = 31.09$$

No se rechaza existe diferencia entre
los tratamientos a los diferentes tiempos.

Figura 23. Concentración de Albúmina sérica en ratas.



VII. ANALISIS DE RESULTADOS Y DISCUSION

Esta sección del trabajo la iniciaremos por el análisis del lote A ó control en las ratas, en el cual apreciamos que durante el tratamiento de hormonas tiroideas, aceite mineral y tetracloruro de carbono en un periodo comprendido entre cero y 24 horas posteriores a la inducción, se detecto que el promedio de los parámetros bioquímicos equivale :

P- alcalina	69.475	U / L
Gama glutamiltransferasa	11.0	U / L
Bilirrubina total	0.0656	mg / 100 ml
Bilirrubina directa	0.004	mg / 100 ml
Bilirrubina indirecta	0.181	mg / 100 ml
Colesterol sérico	97.05	mg / 100 ml
Proteinas totales séricas	70.5	mg / 100 ml
Albumina sérica	32.875	mg / 100 ml

Debemos hacer notar que estos parámetros fueron obtenidos al hacer uso de la estadística como una herramienta de trabajo registrados en ratas normales a las 6,12,18,24 horas. Consideramos que las variaciones que se observan en las gráficas de la 1 a 8 para lote A corresponden a características individuales de cada animal.

En la gráfica 6 de colesterol, observamos una variación en las concentraciones, en las cuales se visualiza el aumento de colesterol para los lotes B, C, D, E comparando las medias de estos lotes, con la del control.

También observamos un punto máximo a las 18 horas, aún más marcado para el lote E al cual se le administró el tetracloruro de carbono que es un agente hepatotóxico que tiene su efecto máximo a este tiempo. En menor proporción para el lote D que se le administró T_3 / CCl_4 . Debido posiblemente a que el efecto de la hormona tiroidea disminuyó, el del hepatotóxico en mención.

Utilizando la prueba estadística de t de student, se aprecia que existe diferencia entre los tratamientos a los diferentes tiempos; ocasionados por el agente administrado en cada lote.

En cuanto a las bilirrubinas se sabe que provienen del catabolismo del grupo hemo (11,38), la bilirrubina total es el equivalente a bilirrubina directa más la bilirrubina indirecta.

La bilirrubina indirecta es sintetizada en el sistema retículo endotelial, en el bazo principalmente, al degradar el grupo hemo y esta molécula es transportada al hígado vía vena porta para que este órgano la conjuga con el ácido glucurónico y forme la bilirrubina directa (38,49,53). La bilirrubina indirecta o libre se encuentra presente en el plasma normalmente en concentraciones relacionadas con la cantidad de eritrocitos lisados o envejecidos. Del resultado promedio normal observamos una

concentración de 0.181 mg / 100 ml. para bilirrubina indirecta; 0.004 mg / 100 ml. para bilirrubina directa. que hace un total de 0.185 mg / 100 ml. de bilirrubina total. La concentración reportada normal en suero de ratas esta en un rango de 0.15 +/- 0.15 - 0.35 +/- 0.12 mg / dl. Lo que nos lleva a decir que los valores de bilirrubina pueden tener un máximo de 0.42 y un mínimo de cero.

Haciendo uso de los datos estadísticos y las gráficas, se observa para la bilirrubina directa una variación positiva de todos los datos comparados con el lote control, siendo aún mayor para los lotes D y E. Con un máximo a las 12 horas. En los cuales la concentración de bilirrubina promedio se encuentra por arriba de el dato máximo reportado; que nos podría manifestar el daño que esta sufriendo el hepatocito con la presencia del agente tóxico que se les administró. También es notable que para el lote D donde se les administró hormona tiroidea además de tetracloruro de carbono; es menor la concentración de bilirrubina directa presente en el suero comparada con la del lote E. Sucede algo similar para la bilirrubina total. En la bilirrubina indirecta tenemos un máximo a 6 horas para el lote A que pudiera deberse a hemolisis presentada en las muestras de las ratas, ya que este comportamiento no se observa posteriormente; las concentraciones de bilirrubina indirecta para los lotes B, C, D, E se encuentran por arriba del control. La diferencia es significativa y debida al

tratamiento en cada lote, abalándose esto con la prueba de t de student (pág. 87).

Como se aprecia en la gráfica 7 el efecto del aceite mineral en proteínas séricas es disminuirlas (B). La hormona tiroidea presenta un aumento significativo de proteínas séricas. Nosotros sabemos que las hormonas tiroideas inducen el catabolismo celular y si la rata no consumió el suficiente alimento, se pudieron utilizar las proteínas como sustrato metabólico. (11,38,49,70).

El aceite mineral provoca un decremento menos marcado que la hormona tiroidea por sí sola. Sabemos que si el hepatocito es dañado por un hepatotóxico como el CCl_4 la síntesis proteica que ocurre en esta célula tendrá que disminuir, no en su totalidad, por las funciones homeostáticas que tiene el hígado.

Los efectos de la hormona y el hepatotóxico (curva D) presentan una disminución de concentraciones de proteínas ubicada entre E y C 18 hs post inducción.

El hepatocito tiene una doble función 1) destoxifica, depura CCl_4 ;
2) Actúa hormonalmente a nivel metabólico por la T_3 .

En este caso de los resultados de proteínas totales para B, C, D, E se observa que las concentraciones están por debajo de los datos promedio para el lote A. Si estos datos los comparamos con los datos normales reportados que van de 6.1 +/- 15 mg /100 ml de plasma, se encuentran dentro de los valores

normales. Estadísticamente se encuentra que las variaciones de concentración de proteínas totales entre los tratamientos, es debida a el efecto del aceite mineral. T₃, CCl₄ y T₃/CCl₄.

De los datos de albúmina sérica en ratas para esta investigación tenemos algo similar al anterior.

Para la actividad de gama - glutamiltransferasa tenemos un máximo a las 6 horas para D y 12 horas para E ; lo que se explicaría como la detección del daño hepático rápidamente (enzima que se caracteriza por el aumento de su actividad inmediatamente en presencia de lesión hepática). Posteriormente la anulación de la actividad posiblemente por la regeneración hepática. también es importante mencionar que la actividad de la enzima se manifiesta más rápido en el lote D. Si hacemos uso de la estadística existe una diferencia significativa para los tratamientos sobre todo a 6 horas para D y 12 horas para E.

La actividad de la enzima en ratas normales es de 11 U / L.

Para la fosfatasa alcalina en la gráfica 1, para C apreciamos que el efecto de la T₃ es aumentar los niveles de la actividad de la enzima a 6 hrs, sabemos que las fosfatasas catalizan la hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico (ácidos nucleicos) (46,49).

Si la hormona tiroidea en exceso produce catabolismo celular, debemos considerar que el catabolismo incluye la degradación y que pueden los ácidos nucleicos ser degradados por acción de estas enzimas, al romper los enlaces ester característicos. los ácidos nucleicos son parte del catabolismo proteico o bien ser degradados por estas vías generales.

El CCl_4 / ac. mineral (E), causo una disminución en la actividad de la enzima a un tiempo critico de 18 horas, cuestión que es abalada teóricamente, ya que la dosis de CCl_4 no fue muy severa.

La intención que se tenía no era destruir hepatocito, sino solo modificar su metabolismo, únicamente en cuanto a lípidos y no así de ácidos nucleicos, por lo que la fosfatasa alcalina no tiene por que aumentar, sino disminuir como se presenta. El CCl_4 sobre lípidos.

La curva D que es la conbinación de T / CCl_4 manifiesta una disminución de la enzima a las 12 horas; de 18 a 24 horas post inducción aumento mucho más que los otros lotes.

La disminución inicial posiblemente sea debida al efecto de CCl_4 ya que no hay ésteres de ácido fosfórico que degradar; es decir el hepatocito inicialmente responde al tóxico y tiene la capacidad de contrarrestar el efecto. Como además tiene T disponible es muy activo y responde a cualquier necesidad de la célula. Cuando el tóxico ya ha sido depurado la T se hace manifiesta causando

un aumento en la actividad de la enzima, dado que la hormona T₃ presenta un periodo de vida media de 8 días posteriores a la administración de la misma.

En la fosfatasa alcalina las variaciones observadas son significativas En el lote normal o testigo la actividad de la enzima fué de 69.475 U /L.

VIII. CONCLUSIONES

El CCl_4 es un hepatotóxico causante de la esteatosis hepática, cuando el hepatocito es tratado con hormonas tiroideas la captación de aminoácidos se incrementa como respuesta al aumento de gama glutamil transferasa.

La hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico aumentan posteriormente al efecto hepatotóxico del CCl_4 .

La albúmina sérica y proteínas totales disminuye como respuesta a ambos agentes CCl_4 / T₃.

La bilirrubina directa aumenta posiblemente a causa del efecto del CCl_4 y no de la hormona tiroidea.

El colesterol se ve aumentado como respuesta a ambos fármacos.

IX. REFERENCIAS

- 1.-Aguilar Baturon.H.v.y Fraire Martinez M.I. Fisiología del tiroides. Endocrinología y Metabolismo (III).Interamericana 2a.edición.2-34.1982
- 2.- Alarcón Segovia. Higado y vías biliares. Instituto Nacional de Nutrición. UNAM.2a. edición.1968.
- 3.- Allawy RMN Mna. Hassan. Alcohol Carbon Tetrachloride and hepatotoxicity in rats,alcoholisms(zagrela). Interamericana.1324-1353.1975
- 4.- Ambrosio Hdez Javier. Manual de modelos experimentales en la enseñanza de Bioquímica de sistemas. 1985.TESIS
- 5.-Andersson Hurt and Eneroth Peter. Thyroidectomy and Central Calcicolamine Neurons of the male rat. Neurocrinology.45,14-27.1987.
- 6.- Becera Mendoza Aquiles. Presentación Farmacéutica de extracto tiroideo de bovino obtenido en la FESC. Tesis.1991.UNAM.
- 7.- Berg G. Fatty. Pathogenesis and clinical significance. Digestion.11.61-64.1968.
- 8.-Berger Sheldon. Prueba de Función tiroidea. Endocrinología,parte II s/v 607-623.1987.
- 9.-Bertram G. Katzung. Farmacología Básica clínica. Manual Moderno.39-47.1987.
- 10.-Berkow Dr.Robert. El Manual Merk. Interamericana. 7a.edición.765-801.1986.
- 11.-Bernard Henry. Diagnóstico clínico por el laboratorio. 7a. edición.Salvat editores.1984.
- 12.- Bhagavan V.M y López de Fortuna Gladis. Bioquímica Interamericana.2a. edición .540-554,1013-1024,1062-1069.1984.
- 13.-Boguski Marks. Jonh. B Lowels. Human Liver Fatty Acid Binding protein. The Journal of Biological Chemistry. 3413-3417.1985.

- 14.-Brian C.W. Hummel. 5'Iodotironine deiodinase of rat liver activit in microsomes prepart by varios metods, solubilization by detergents and partial purification. Biochemica et Biophysica acta.173-185, 541.1985.
- 15.-Caponnsto A.R Rondinoe; The Essential Fatty Acid in the Adipose Tissue. Boll soc. Ital Biol 60(11) 2127-2130.1984.
- 16.- Cay B Mc Paul, Edward Kcay and Lee Poyer. Oxigen and Carboncentered free redicals formation during carbon tetrachloride metabolisms. The Journal of Biological Chemistry. 259(42) 2135-2143.1984
- 17.- Cay Mc Paul and Lee Paul B. Evidence for Carbon Tetrachloride Induced Lipid Peroxidation in Mouse Liver.Biochemical pharmacology. 3(31) 405-409.1982.
- 18.-Delgado Buenrostro N. Laura. Determinación de Algunos Parametros Fisicos y Bioquímicos en ratas tirectomizadas parcialmente y efectos provocados sobre estas al administrar hormonas tiroideas. Tesis. 1989.
- 19.-Dilman H.W. Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas clinicas medicas Norteamericana. Enfermedades de la hormona tiroides.5.891-899.1985 .
- 20.- Delvin .T.M. Bioquímica. Reverte.2a edición. 495-712.1988
- 21.-De Wit. Robert H & Michael J. Brabec. Protein Sintesis by hepatic mitochondria isolate form carbon tetrachloride exposed rat. Biochem Bio Ph acta 824(3) 256-262.1985.
- 22.- Ellsrecht Alex and Lazier Catherine B. Selective inhibitory effect of thyroid hormones on estrogen induced protein syntesis in chick embryo. Liver cant.J. Biochem. Cell Biol.(63)1206 - 1211.1989.
- 23.-Emerson H.Charles. Hipotiroidismo e hipertiroidismo. Centrales clinicas medica de norteamerica..Enfermedades de la glándula tiroides.(5)1065-1079.1985
- 24.-Evelin Perce. Manual de Anatomía y Fisiología .Jims.2a. edición.261-266.1981.
- 25.- Ferreras Valet. Medicina Interna. Martin.85-95.1975.
- 26.-Foye W. Owilliam. Principios de química Farmacéutica. Reverte.2a. edición.537-541.1988.

- 27.- Francone Lossow Jacob. Anatomía y Fisiología Humana. Interamericana. 4a. edición. 494-496. 1986.
- 28.- Ganong f. W. Fisiología Médica. El Manual Moderno. 11a. edición. 193-212, 267-281, 341-353, 415-420. 1988.
- 29.- Galton, Valerie Anne. Thiroxine and 3,5,3' triyodotoronine bind to the same putative receptor in hepatic nuclei.
- 30.- Guyton Dr. Arthur. Tratado de Fisiología Médica. Interamericana. 4a. edición 395-407. 1989.
- 31.- Gray G.H. Patología Química. Elicien. 4a. edición. 88-97-1969.
- 32.- Graing Dr. Charles. Farmacología Médica. Interamericana. 1a. edición 895-930. 1984.
- 33.- Ham. Dr. Arthur. Tratado de Histología. Interamericana. 6a. edición. 1970.
- 34.- Harrison. Principles of internal medicine. Mc graw.Hill. 9a edición. 1459-1472. 1980.
- 35.- Harvey Michael J. and Curtis D. Klaassen. Interaction of metals and carbon tetrachloride on lipid peroxidation and hepatotoxicity. Toxicology and applied pharmacology. (71) 316-322. 1983
- 36.- Hunter frye. Swafzelder. Manual de Medicina Tropical. La prensa medica mexicana. 3a. edición. 330-352. 1973.
- 37.- Herrera Emilio. Bioquímica. Interamericana. 1a. edición. 235-248, 295-444 y 509. 1986.
- 38.- Kaplan Perce. Química Clínica. Panamericana. 1a. edición. 531-539. 1986.
- 39.- Kisauzi. D.N. and B. Lee K. Liver Bloos Flow and volatile Fatty Acid utilitiation in sheep before and after carbon tetrachloride. treatment Academic Press Limited. 471-480. 1988.
- 40.- Kosugi k. V. Harano. T. Nakano. Mecanism of Adrenergi Stimulation of Hepatic Ketogenesis. Metabolism (11) 32. 1983
- 41.- Lamb Robert G. The role of phospholipid metabclism in bromobenzene and carbon tetrachloride dependant Hepatocyte injury. Toxicology and applied pharmacology. (75) 510-520. 1984.
- 42.- Latarget A.L. Testut. Compendio de Anatomía Descriptiva. Salvat editores. 1a. edición. 531-539. 1986.

43.-Layne Ennis. Espectrophotometric and turbidimetric methods for measuring protein. Methods in enzymology •Academic Press London.

44.- Layne Ennis. A rapid procedure for the determination of serum cholesterol appendix of practical methods. 1979.

45.- Lesson Thomas. Histología. Interamericana. 386-390.1984.

46.- Lehninger Albert L. Biochemistry. Worth. Publishers inc. 6a. edición. 543-583, 832-850.1975.

47.- Litter Manual. Farmacología Experimental clinica. El Ateneo. 6a. edición. 1132 -1255.1983.

48.-Maisterieno Jorge. Padecimientos por deficiencia de yodo.Realidades Nutrición (1)11 33-43.1988.

49.-Martin W. David Mayes A. Bioquímica del Harper. El Manual Moderno. 11a. edición 246-247,482-493.1986.

50.- Martinez Hdez Antonio. The Hepatic Extra Celular Matrix Electron inmunohistochemical studies in normal rats liver. Laboratory Investigation 51(1) 1984.

51.- Moncada Cavilan Dr. Silvino. Algunos parametros Clínicos epidemiológicos de la esteatosis hepática. Rev.cubana médica.26.249-255.1987

52.- Moyomoto Takohide. Hashizome Kiyoshi. Effect of thyroid hormone on the protein inhibitors for Ca²⁺ dependent in brain. Evidence for the induction by thyroidectomy changes in immature rats. Endocrinology.123(4) 1916 -1922.1988.

53.-Orten M. James and Neuhaus W. Otlo. Bioquímica Humana. Panamericana. 631-636.744-745.1984

54.- Pessayre Barton Cobert Dominique. Hepatotoxicity of Trochloroethylene carbon tetrachloride mixtures in rat. Gastroenterology. (83)761-772.1982.

55.- Prabhati Ray and Lesson More. Carbon Tetrachloride. Induced release of calcium from isolated hepatocytes. Toxicology.41.205-212.1986.

56.-Reinhart Ernest. Biología Farmacéutica.Manual Company Editores la. edición.1982.

- 57.-Revuelta Miranda Ma. Esther y Delgado Buenrostro N.L. Guía práctica de animales de laboratorio de Bioquímica de sistemas sección de BQ.Genética.FESC UNAM.25-46.1988.
- 58.- Revuelta Miranda Ma. Esther . Marcadores Moleculares en cabras del antiplano de la ciudad de México. 17-19.33-34.Tesis.1982.
- 59.-Reynold Edwards.Carbon Tetrachloride to excretaed and bound Metabolites Biochemical Pharmacology 33(21). 3363 - 3372.1984.
- 60.-Rosentein Emilio. Diccionario de especialidades Farmacéuticas PLM 32a.edición.219-221.1987.
- 61.- Rovuiere H. Compendio de Anatomía y Disección. Salvat. 3a. edición 494-500.1979.
- 62.-Richarid Henry J.M.D. Química Clínica Principios y Técnicas tomo I y tomo II JIMS.687 - 1094.1980.
- 63.- Rixon R:H. R:J. Isacc. Control of DNA polimerase & activity in regeneration rat liver by calcium and 18,25 (OH)₂ D₃ Journal of celular Physiology(139)354-360.1989.
- 64.- Shen Emilys Garry Vicent.Effect of Hipoxia on carbon tetrachloride hepatotocity. Biochemical Farmacology.
- 65.- Shinwa Yamada and Charles Lieber. Decrease in microviscosity and cholesterol content otrac-liver plasma membranes after chonic ethanol feeding. The Journal of Clinical investigation.(74)2285-2289.1984.
- 66.- Selander Robert and Suh Y Yang. Protein Polimorfism and genic heterozygosityin wild population of the mouse. Musmus colus
- 67.-Silbernagl f.an.Despopoulosa. Actas de Fisiología. Científica PLM.la. edición 212-222,230-236.1985.
- 68.-Simion F. Anthony. Subcelular distribution of bile acids and tauro Cholate. Biochemistry.(26)6454-6466.1984.
- 69.-Spoulding W Stoplan andLippest Haward. Hipertiroidismo,causas,cuadro clinica Y diagnóstico.Clinicas Médicas de Norteamerica"enfermedades de la glándula tiroides"(5) 983-997.1988.
- 70.-Stryer. Bioquímica .3a.edición ed. Reverté T.2. 183-190,145-150.1988.

- 71.- Sugawara R. Masahiro. Low Ray Harris. Consumption in the hypothyroid dog. Metabolism. 31(3) 247-251 .1982.72.-Susumu Itoh, Fujio Yamagishi. Relation ship between liver microsomas and serum thyroid hormones in rats treated with., carbon tetrachloride. 6(1) 1989.
- 73.-Tibaldi M, Joseph y Surkst I. Martin. Efectos de enfermedades no tiroideas sobre la función del tiroides. Clinicas Médicas de Norteamérica "enfermedades de la glandula tiroides".(5)943-953.1985.
- 74.- Tietz Dr. Norbert W. Química Clínica Moderna. Interamericana. la. edición 1110-1012.1972.
- 75.-Torres Salinas M. Formación continuada del médico práctico de las enfermedades hepáticas de origen hepático. Hospital Clinic Provisional.74-71.
- 76.-Venkatarrisma Shyamala. Effect of starvation on degradation of rat liver nuclear proteins. Internat J. Vit Nitri Res 54. Reseived for Pubication.393-399.1984.
- 77.- Waller Li Robert. Evaluation of role for phosgene production in the hepatotoxic mechanism of action of carbon tetrachloride and bromotrichloromethane. Toxicology and applied Pharmacology. 66(19) 172-181.1982.
- 78.- Weis Leon y Green Poyo. Histology 4a. edición Mc. Graw Hill Company N:Y. 1977.