

52
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

POTENCIALIZACION POR LA L-TRİYODOTIRONINA
DE LA COLELITIASIS PIGMENTARIA PRODUCIDA
POR LA VITAMINA-A EN EL JAMSTER DORADO
(Mesocricetus auratus)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

PERLA VERONICA ESTAÑOL PEREZ

MEXICO D. F.

NOVIEMBRE 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

Indice de Contenido

Dedicatorias	x
Agradecimientos	xi
Introducción	1
Abreviaturas	2

Primera Parte.

1.0 Revisión de la Literatura	3
1.1 Generalidades sobre coliclitiasis	4
1.2 Cálculos pigmentarios y tiroxina	14
1.3 Hormonas de la Tiroides	15
1.4 Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas	25
1.5 Relación Vitamina A-Hormonas de la Tiroides	27

Segunda Parte.

Sección Experimental	29
2.1 Objetivos	30
2.2 Material y Métodos	31
2.3 Resultados	36
2.4 Discusión	44
Conclusiones	49

Tercera Parte.

3.0 Resumen General y Bibliografía	50
3.1 Resumen General	51
3.2 Bibliografía	54

Introducción

El presente estudio forma parte del proyecto sobre colelitiasis experimental, que el Laboratorio de Biología Animal Experimental de esta Facultad ha venido desarrollando desde hace más de 20 años, para conocer la patogénesis de esta enfermedad y buscar mecanismos para su prevención, control y/o curación. En este trabajo hemos utilizado al jámster como modelo para estudiar el efecto de la Hormona Tiroidea, la triiodotironina, en la colelitiasis pigmentaria producida por la Vitamina A. Además, se incluye una revisión actualizada de los conocimientos sobre epidemiología, patogénesis e investigaciones en el jámster sobre la colelitiasis pigmentaria; asimismo se realizó una revisión sobre el metabolismo, fisiología e interacciones de la Vitamina A con las Hormonas Tiroideas.

Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Animal Experimental, en el cual laboro desde 1990 como Asistente de Investigación, en calidad de Becaria dentro del Programa de Formación del Personal Académico de la U.N.A.M.

Las investigaciones reportadas en esta tesis han sido parcialmente presentadas en el XXV Congreso Nacional de Gastroenterología (1991) y en el VII Congreso de las Sociedades Panamericanas de Bioquímica (1992), realizados en Cancún (Quintana Roo), e Ixtapa-Zihuatanejo (Guerrero), respectivamente.

Abreviaturas.

AMP: Adenosín Mono-fosfato.	RBP: Proteína Ligadora de Retinol.
AMPC: Adenosín Mono-fosfato cíclico.	RE: Elemento (Nuclear) de Respuesta.
5'-DI: 5'-Deiodinasa de Tiroxina Tipo I.	REL: Retículo Endoplásmico Liso.
5'-DII: 5'-Deiodinasa de Tiroxina Tipo II.	mRNA: Acido Ribonucléico Mensajero.
DB: Dieta Básica.	rRNA: Acido Ribonucléico Ribosomal.
DL: Dieta Litogénica.	rT3: Triiodotironina Inversa.
DNA: Acido Desoxirribonucleico.	T3: Triiodotironina.
FSH: Hormona Folículo Estimulante.	T4: Tiroxina.
GOT: Transaminasas Glutámico oxalacéticas.	TGB: Proteína Ligadora de Tiroxina.
GMPc: Guanosín Mono-fosfato Cíclico.	TR: Receptor (Nuclear) Tiroideo.
GPT: Transaminasas glutámico pirúvicas.	TRE: Elemento (Nuclear) de Respuesta a la Tiroxina.
LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad.	TRH: Factor Liberador de Tirotropina.
LH: Hormona Luteinizante.	TSH: Tirotropina.
RAR: Receptor (Nuclear) de Acido Retinoico.	TCDD: 2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina.

Primera Parte.

1.0 Revisión de la literatura.

1.1 Generalidades sobre colelitiasis.

Un cálculo biliar es un cuerpo duro, producido cuando una sustancia que normalmente existe en la bilis se precipita al aumentar su concentración relativa; este precipitado se asocia con glucoproteínas de las vías biliares hasta constituir un conglomerado al que se combinan otras sustancias de la bilis (Ganong, 1985). La composición de los cálculos puede ser muy variada, pues llega a incluir colesterol, colesterol monohidratado, bilirrubinato de calcio, palmitato de calcio, ácido palmítico, aragonita, calcita, hidroxipatita, etc., aunque las sustancias que con mayor frecuencia forman los cálculos son el colesterol, las sales de calcio y los pigmentos biliares (Rodgers *et al*, 1981).

Las primeras clasificaciones de los cálculos biliares se basaron en aspectos morfológicos de los mismos (Lagarriga, 1978), y posteriormente se han clasificado en 3 tipos principales, atendiendo a su composición: A) Cálculos de colesterol; B) Cálculos de pigmento o cálculos de calcio; y C) Cálculos mixtos.

A) Cálculos de colesterol. Probablemente no existan los cálculos de colesterol puros, pero llegan a contener este lípido hasta en un 98% de su peso (Lagarriga, 1978). Son cristalinos, radiados y translúcidos, de forma redondeada u ovoidea, excepto en el caso poco común de cálculos múltiples, los cuales tienen la apariencia de una frambuesa (Sherlok, 1981).

Su tamaño es inversamente proporcional a su número. El segundo componente de estos cálculos es el carbonato y otras sales de calcio, como las de palmitato y fosfato (Rodgers, 1981).

La bilis vesicular humana está muy cercana al punto de saturación del colesterol, lípido que es solubilizado en la bilis por un sistema micelar de sales biliares y fosfolípidos; cualquier cambio en la concentración absoluta de los ácidos biliares, fosfolípidos y/o colesterol reduce la capacidad de solvencia micelar biliar, formándose entonces grandes vesículas de fosfolípidos y colesterol, las cuales son relativamente estables aunque pueden llegar a fusionarse, promovidas por factores tales como la concentración de iones cálcicos y diversas proteínas, hasta la precipitación de microcristales de colesterol, con la posterior formación del cálculo (Sherlok, 1981; Crowther & Sólway, 1990).

B) Cálculos de pigmentos. Son polimórficos, generalmente múltiples, cuyo color puede variar dependiendo del tipo y cantidad de pigmento presente. Los pigmentos que los forman son la bilirrubina, la biliverdina, la bilifuscina y la hematina, siendo la bilirrubina el más común. En general, son amorfos aunque llegan a mostrar anillos concéntricos. Se han clasificado de la siguiente manera (Trotman & Sólway, 1982):

a) Cálculos de bilirrubinato de calcio: i) De color café o anaranjado, muchas veces laminados; contienen sales de bilirrubinato de calcio, ácidos grasos, fosfato, raramente carbonato y algunos, hasta un 10% de colesterol. Se les localiza tanto en los conductos extra- como intrahepáticos, asociados generalmente a infecciones de la vesícula biliar. ii) De color negro y de consistencia dura, asociados generalmente con procesos hemolíticos y/o cirrosis. El pigmento que les da color es un polímero de alto peso molecular derivado de la bilirrubina, que posiblemente contiene algunos complejos metálicos (Suzuki, 1965). Usualmente ocurren en la vesícula y no se asocian a infecciones biliares.

b) Los cálculos de sales orgánicas e inorgánicas de calcio. Su componente predominante es una sal cálcica orgánica o inorgánica, tal como el fosfato, palmitato o carbonato de calcio. El bilirrubinato de calcio se encuentra como un componente menor. Son generalmente de color negro y se desarrollan sólo en la vesícula biliar.

C) Cálculos mixtos. Constituyen el 80% de los cálculos biliares. Pueden ser múltiples, redondos, facetados, de superficie lisa o rugosa (Lagarriaga, 1978). Están compuestos de pigmentos biliares, sales de calcio, por lo menos un 70% de colesterol y una matriz proteica (Sherlok, 1981). Algunos contienen colesterol en el interior, rodeado por una capa externa radiopaca, compuesta de calcio y pigmentos biliares, a los que se denomina "cálculos combinados".

Recientemente se ha hecho una revisión sobre la patogénesis y epidemiología de los diferentes tipos de colelitiasis (Galicia, 1991); a continuación se presenta un breve y actualizado resumen sobre la epidemiología y patogénesis de la colelitiasis pigmentaria en el hombre.

1.1.1 Colelitiasis Pigmentaria en el Hombre.

a) Epidemiología.

La información epidemiológica de la coleditiasis pigmentaria se ha podido obtener a partir del tratamiento quirúrgico de esta enfermedad en diferentes partes del mundo, lo que ha permitido sugerir factores etiológicos únicos para cada uno de los tipos de cálculos pigmentarios que se presentan en la población humana, ya que la incidencia de éstos varía en los diversos países, zonas y grupos de edades.

Los cálculos negros de pigmento se asocian con los países occidentales, donde las dietas contienen altos porcentajes proteicos y de carbohidratos. En el Oriente de Estados Unidos, este tipo de cálculos representa hasta un 30% de aquellos identificados mediante extirpación quirúrgica (el porcentaje restante son cálculos de colesterol); su frecuencia disminuye en poblaciones con proporciones crecientes de habitantes de origen Hispano y Escandinavo. En el Japón, los cálculos de este tipo han incrementado su incidencia del 0% al 9% a partir de la Segunda Guerra Mundial, cambio atribuible a la introducción de dietas occidentales durante los últimos 50 años.

En el Oriente, incluyendo Japón, China, Korea, Taiwan, Las Filipinas, Vietnam, Tailandia, Malasia, Singapur e Indonesia, los cálculos pigmentarios que se producen con mayor frecuencia son los de color café, los cuales llegaron a representar en Japón el 70% de los cálculos encontrados en la vesícula durante 1940. Sin embargo, en la década de los 70's, este porcentaje en las zonas urbanas del Japón disminuyó hasta el 20%, mientras que en las zonas rurales la proporción de pacientes con cálculos café es mucho mayor, lo cual se debe, al parecer, a que la dieta tradicional japonesa baja en proteínas, prevalece aún en estas poblaciones.

La incidencia de cálculos café en algunas partes de China es del 90%, en tanto que en Mongolia, cuya dieta básica se compone de carne, la mayoría de los cálculos que se presentan son de colesterol. En la India, los cálculos café son poco comunes y totalmente desconocidos en algunas tribus de Africa. En los Estados Unidos este tipo de cálculos raramente ocurre como enfermedad vesicular primaria, pero representan el 50% de los casos de cálculos recurrentes.

La frecuencia con que se presentan los cálculos pigmentarios se incrementa con la edad, alcanzando un pico en la década de los 80's. El sexo también influye en la prevalencia de esta coleditiasis, ya que las mujeres son más susceptibles a desarrollar cualquier tipo de cálculos que los hombres. Probablemente el desarrollo de los cálculos negros está determinado genéticamente.

b) Patogénesis.

La composición y características fisicoquímicas de la bilis juegan un papel importante en la patogénesis de los cálculos biliares, ya que existen diversos factores que pueden dar lugar a una bilis litogénica, es decir, aquella que potencialmente puede dar origen a la formación de cálculos. Crowther y Soloway (1990) los resumen de la siguiente manera:

i) Iones de calcio libres: El calcio secretado por el hígado en la bilis se equilibra pasivamente con el suero a través del árbol biliar. Aunque el calcio se une a las sales biliares de las micelas mixtas y a algunas proteínas, la concentración de iones libres de calcio mantiene un equilibrio con el plasma, por lo que el ligar estos iones no es, probablemente, un mecanismo totalmente efectivo para prevenir la precipitación de aniones sensitivos de calcio; sin embargo, la concentración de iones libres de calcio depende en parte de la proporción calcio-sales biliares (Strichartz *et al*, 1989).

ii) Contenido de bilirrubina: Mientras que la bilirrubina conjugada es estable a concentraciones fisiológicas de calcio, la forma no conjugada reacciona rápidamente con éste formando sales, las cuales, como se ha mencionado, son compuestos predominantes en los cálculos pigmentarios. El contenido normal de bilirrubina no conjugada representa el 1% de la bilirrubina total en la bilis; el exceso de excreción de bilirrubina no conjugada puede darse en casos de hemólisis y cirrosis, las cuales son enfermedades frecuentemente asociadas con coleditiasis pigmentaria.

iii) Incremento de otros aniones orgánicos e inorgánicos: Los aniones carbonato y fosfato pueden encontrarse aumentados debido a alteraciones en el pH biliar o a defectos de acidificación de la bilis, por lo que se precipitan como sales inorgánicas de calcio. Por su parte, las sales cálcicas de ácidos grasos se producen debido a la presencia de bacterias, en especial de *Escherichia coli*, ya que la actividad de fosfolipasas bacterianas da lugar a la formación de ácidos grasos libres, como el palmitato y el estearato,

las cuales al estar parcialmente ionizados a pHs entre 7 y 9, son susceptibles de precipitarse con el calcio.

1.1.2 Colelitiasis pigmentaria en jámster.

El jámster es un excelente modelo animal para el estudio de la colelitiasis, ya que en él se pueden producir diversos tipos de cálculos, con sólo variar sus condiciones dietéticas. Además, la composición de la bilis de este animal es muy semejante a la humana, consistente en una gran cantidad de ácidos cólico y quenodeoxicólico, así como una menor cantidad de deoxicólico y litocólico, conjugados con glicina y taurina (Siegel, 1985).

La producción y el tipo de cálculo biliar están influidos por los componentes dietéticos. Los 3 tipos principales de cálculos que se producen en el jámster son (Dam, 1969):

i) Cálculos de colesterol. Blancos o de color amarillo claro, cristalinos.

ii) Cálculos de pigmentos. Amorfos, más o menos pigmentados, casi libres de colesterol, pero con gran cantidad de calcio, fosfato y de ácidos biliares conjugados con glicina; también contienen, en menor cantidad, pigmentos biliares.

iii) Cálculos mixtos. Su composición combina la de los dos tipos anteriores.

En el presente trabajo nos enfocaremos a revisar lo referente a la colelitiasis pigmentaria del jámster producida tanto con dietas semipurificadas como con dietas no purificadas. Los experimentos sobre colelitiasis empleando dietas semipurificadas fueron iniciados por Dam y Christensen en 1952.

A lo largo de sus estudios, los cuales versaron principalmente sobre colelitiasis de colesterol, Dam y colaboradores, sin embargo, publicaron también sus resultados sobre los cálculos pigmentarios, los cuales se mencionan a continuación:

La dieta semipurificada de Dam (1952), rica en carbohidratos refinados y baja en grasas, produce principalmente cálculos de colesterol (70 a 100%); sin embargo, modificaciones a esta dieta pueden aumentar la proporción de

cálculos amorfos de pigmentos, aunque siempre se mantienen en menor frecuencia con respecto a los de colesterol.

Dam reporta (1962, 1969) que la frecuencia de cálculos de colesterol aumenta al emplear jámsteres jóvenes al comienzo del experimento, en tanto que el desarrollo de cálculos de pigmentos se incrementa al emplear jámsteres viejos. Los experimentos de Dam (1969) muestran que la frecuencia de cálculos, tanto de colesterol como de pigmentos, es más alta en las hembras que en los machos. Factores como el período de destete de los animales, pueden influir en la tendencia a la formación de cálculos, por lo cual es conveniente emplear en los experimentos, para fines comparativos, jámsteres procedentes de la misma colonia (Dam, 1962), mantenidos con el mismo alimento.

Esta dieta semipurificada, deficiente en ácidos grasos esenciales y alta en carbohidratos de fácil absorción (Tabla 1) produce de 0 a 20% de cálculos pigmentarios. La sustitución total de glucosa o sacarosa por almidón de arroz como fuente de carbohidratos previene la formación de todo tipo de cálculos; sin embargo, la sustitución parcial de glucosa o sacarosa por almidón de arroz produce un aumento en la colelitiasis pigmentaria, especialmente cuando la proporción de estos carbohidratos es de 1:1 (Dam & Christensen, 1961).

Ciertas grasas incorporadas a estas dietas litogénicas ejercen influencia en la frecuencia y tipo de cálculos: el aceite de soya y el aceite de hígado de bacalao aumentan la producción de cálculos pigmentarios en un 10.3 y 20.5% respectivamente, (Dam & Christensen, 1961; Christensen et al, 1964).

La adición de 1% de colesterol en dietas altas en carbohidratos y adicionadas con mantequilla o margarina, incrementa tres veces la frecuencia de colelitiasis pigmentaria en las hembras, pero no afecta considerablemente la de los machos (Dam et al, 1968).

Dam y colaboradores (1965), observó el efecto de diversas hormonas en la producción de cálculos. La gonadectomía de jámsteres aumentó la incidencia de cálculos amorfos de pigmento en ambos sexos, en tanto que disminuyó la de cálculos de colesterol. La progesterona también aumentó el porcentaje de cálculos de pigmento en hembras intactas, mientras que la administración de testosterona a machos intactos y de estradiol a hembras intactas no tuvo influencia aparente en la producción de cálculos; sin embargo,

al considerar a estos jámsteres intactos de ambos sexos como un sólo grupo, la frecuencia de cálculos pigmentarios fué significativamente menor que en los animales gonadectomizados. Por otro lado, la adición de cortisona a la dieta no produjo en ningún caso cálculos de pigmento, pero todos los animales tratados presentaron cálculos de colesterol.

Tabla 1.—Dieta Litogénica
(Dam & Christensen, 1952)

Glucosa	74.3 g
Caseína	20.0 g
Mezcla de Sales ^m	5.0 g
Mezcla de Vitaminas ^m	0.5 g
Cloruro de Colina	0.2 g

^m U.S.P. no. 2 XI — Biotina 2.0g; Ac. Fólico 2.5g; Ac. Ascórbico 5.0g; Hidrocloruro de Tiamina 5.0g; Riboflavina 5.0g; Hidrocloruro de Piridoxina 5.0g; Perforato de Calcio 5.0g; Ac. Nicotínico 8.0g; Inositol 8.0g; Ac. p-aminobenzoico 35.0g; Vitamina K (Synkaf, Roche) 1.0g; d-alfa Tocoferol (Ephyral Roche) 5.0g; Adic. Las Vitaminas A y D3 se administraron en solución acuosa correspondiente a 59 UI de Vitamina A y 5.8 UI de Vitamina D3 por animal por día.

Otros investigadores han empleado la dieta de Dam o modificaciones de ésta para estudiar la colelitiasis pigmentaria. Cohen y colaboradores (1987) reportan una dieta alta en sacarosa, con 150 mcg% de etinil estradiol y 0.3% de colesterol, produce un 50% de colelitiasis pigmentaria, señalando al colesterol como posible causante de ésta, ya que aumenta el calcio biliar y así la nucleación de sales de calcio se puede ver favorecida por los elevados niveles de colesterol biliar que se producen.

La producción de colelitiasis pigmentaria empleando dietas no purificadas ha sido estudiada por Granados desde 1971. A lo largo de sus investigaciones, Granados y colaboradores han encontrado factores que adicionados a las dietas de mantenimiento para roedores, producen colelitiasis pigmentaria, *i.e.*, factores

litogénicos, y otros que no siendo litogénicos *per se*, potencializan a estos factores litogénicos; también, han encontrado factores preventivos de este tipo de colelitiasis. A continuación se resumen los hallazgos de estas investigaciones:

Factores litogénicos.

Jámsteres alimentados con la dieta de mantenimiento Purina Laboratory Chow for Rats, Mice and Hamsters a los que se dá como bebida leche de vaca pasteurizada, homogenizada, cruda o hervida, desarrollan cálculos pigmentarios con una alta frecuencia, siendo la fracción grasa de la leche (mantequilla o crema) la responsable de la colelitiasis. La adición de 25% de mantequilla a la dieta de mantenimiento constituye una dieta litogénica consistente (Granados, 1974; Granados, 1975). La manteca de cerdo, también a un nivel de 25% en la dieta de mantenimiento, exhibe una moderada acción litogénica (45% de animales con cálculos), siendo menor a la de la mantequilla (Granados *et al*, 1977), en tanto que los aceites vegetales comestibles, tales como el de maíz, soya, ajonjolí, girasol, cártamo y algodón, al nivel de 25% en la dieta no tienen acción litogénica alguna (Estrada *et al*, 1976); esto indica que las grasas de origen animal son litogénicas mientras que las vegetales no lo son.

Considerando el contenido de Vitamina A de la mantequilla, Granados y colaboradores pusieron a prueba la posible acción litogénica de esta vitamina, demostrando que produce una frecuencia de cálculos de pigmento proporcional al nivel suministrado en la dieta, en el rango de 1500 a 15000 UI%, sin que los animales exhibiesen signos macroscópicos de hipervitaminosis (Granados *et al*, 1977). La forma ácida de la Vitamina A, el todo-trans ácido retinoico a niveles de 10.5 y 15.75 mg% en la dieta, produce una alta frecuencia de colelitiasis, similar a la producida por niveles equivalentes de acetato de retinol; estos resultados indican que no existe relación entre el almacenamiento hepático de grandes cantidades de Vitamina A y la colelitiasis pigmentaria (Cárdenas *et al*, 1989).

La colelitiasis producida por la Vitamina A no está asociada a la producción de un exceso de bilirrubina o de calcio total en la bilis vesicular, y no hay alteración alguna en el pH de ésta, aunque sí se acumula un volumen de bilis vesicular mayor en animales con cálculos en ayuno por 12 horas (Cárdenas *et al* 1984; Cárdenas *et al* 1986), lo cual sugiere que puede existir una coleresis inducida por la Vitamina A.

Los carbohidratos refinados incorporados a dietas purificadas sin grasa o con bajo contenido en ésta, producen cálculos de colesterol, pero en dietas no purificadas, la sacarosa y glucosa adicionada al nivel de 50% en la dieta de Purina Laboratory Chow 5001, producen una frecuencia muy alta de cálculos pigmentarios (68 y 100%, respectivamente), en tanto que la fructuosa lo hace (25%) de una manera moderada (Granados & Cárdenas, 1980).

Factores modificadores de la colelitiasis pigmentaria.

Granados (1971) observó que una dieta de mantenimiento, suplementada con leche y zanahoria, producía cálculos pigmentarios en un 44% de los machos y sólo el 7% en las hembras, por lo cual estudió el efecto de la orquidectomía en la colelitiasis, encontrando que ésta la reduce, tanto en frecuencia como en masa de cálculos. Continuando con estas investigaciones, al suministrar testosterona a jámsteres machos intactos, Granados y colaboradores (1978) observaron que aumenta notoriamente la acción litogénica de la mantequilla. Por otro lado, en las hembras, la ovariectomía incrementa la colelitiasis producida por la Vitamina A y por la glucosa (Granados *et al*, 1983). Así, las hormonas sexuales juegan un papel importante en la etiología de los cálculos biliares pigmentarios en el jámster.

Los aceites de olivo y de cártamo puros, que no son litogénicos *per se*, ambos a nivel de 20% en la dieta, potencializan apreciablemente la colelitiasis producida por la Vitamina A (Granados & Cárdenas, 1979). Por otro lado, la zanahoria, rica en precursores de Vitamina A, potencializa marcadamente la acción litogénica de la mantequilla y de la Vitamina A, pero no es litogénica *per se* (Cárdenas *et al*, 1979).

Factores preventivos de la colelitiasis pigmentaria.

Se han puesto a prueba diversos factores, tanto naturales como artificiales, entre los que podemos mencionar un extracto hidroalcohólico de "Gobernadora" (*Larrea tridentata*) y el bulbo de ajo (*Allium sativum*), vegetales que se utilizan en países como México para prevenir la formación de cálculos biliares y otras enfermedades gastrointestinales. Granados y colaboradores (1987, 1988) encontraron que la gobernadora previene totalmente la formación de cálculos producidos por la Vitamina A, pero tiene un marcado efecto tóxico en los animales. Por otra parte, el ajo previene parcialmente esta colelitiasis y no produce signos macroscópicos de toxicidad; al ser suministrado el ajo, a

nivel más elevado (10% de la dieta), el grado de protección es mayor, sin embargo el incremento del crecimiento del jámster en este caso fué apreciablemente menor. Asimismo, el ácido dehidrocólico, a nivel de 0.36% en la dieta previene completamente la colelitiasis, pero provoca un menor crecimiento de los animales (Granados, 1978; Granados & Cárdenas, 1978; Granados & Cárdenas, 1980).

Durante el estudio sobre el efecto de aceites vegetales en la litogenicidad de la Vitamina A, Granados y Soriano pusieron a prueba un derivado del aceite de cártamo, el POLIFAT KA-02 (Aceites polimerizados S.A., México D.F.), el cual se produce por hidrólisis ácida del aceite de cártamo y destilación de los ácidos grasos libres. Este derivado, al nivel de 15% en la dieta, previene completamente la producción de cálculos y no muestra signos macroscópicos de toxicidad (Granados & Soriano, 1980; 1983).

Por otra parte, derivados de los aceites de linaza y soya como el POLIFAT US-2 y el POLIFAT S-02, respectivamente, carecen de acción preventiva, por lo que el agente preventivo del POLIFAT KA-02 parece ser exclusivo de éste, lo cual sugiere que durante la elaboración del POLIFAT KA-02 se puede producir un isómero de algún ácido graso que pudiera ser responsable de la prevención, o que el agente preventivo en POLIFAT KA-02 es separado, durante el proceso de elaboración, de un posible antagonista o inhibidor presente en el aceite completo (Jaime *et al*, 1989).

Ostrow (1984) ha sugerido que en la patogenia de la colelitiasis pueden estar involucrados fenómenos de peroxidación, por lo que Granados y colaboradores han puesto a prueba varios agentes antioxidantes, tales como la Vitamina E y algunos antioxidantes artificiales empleados como aditivos para la conservación de lípidos alimenticios, *i.e.*, el Butilhidroxianisol, la Butilhidroquinona y el Hidroxitolueno Butilado o BHT, (Granados & Cárdenas, 1987; 1989). De estos antioxidantes, sólo el BHT al nivel de 300 mg% previno casi completamente la colelitiasis, y totalmente a 500 mg%, pero este alto nivel produce efectos tóxicos en los animales, tales como reducción del incremento de crecimiento, lesiones renales y hepatomegalia (Cárdenas *et al*, 1990; Galicia, 1991). Finalmente, el Azul de Metileno, que sustituye a la Vitamina E en algunas funciones, al nivel de 126 y 200 mg% en la dieta, previene notablemente la colelitiasis, pero inhibe fuertemente el crecimiento (Granados & Cárdenas, 1987).

1.2 Cálculos pigmentarios y tiroxina.

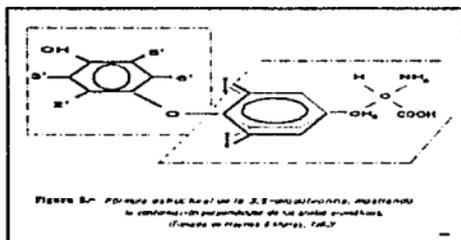
Dam y colaboradores, durante sus trabajos con hormonas (1965), encontraron que la ingestión de 0.02% de glándula tiroidea deshidratada añadida a la misma dieta litogénica, eleva considerablemente el porcentaje de hembras y machos con cálculos pigmentarios, pero la frecuencia de cálculos de colesterol disminuye notablemente.

Bergman y Van der Linden en 1964, trabajando con la hormona tiroidea directamente y con una modificación de la dieta litogénica de Dam (48% de sacarosa y 24% de almidón de arroz), encontraron que 5 mg% de la sal sódica de d-tiroxina añadida a dicha dieta produce una alta frecuencia (potencialización) de cálculos pigmentarios (78%) en jámsteres de ambos sexos, mientras que los animales alimentados con dicha dieta sin d-tiroxina no exhibieron cálculos. El examen histológico de los hígados de estos animales reveló degeneración grasa sufrida por todos los jámsteres tratados con d-tiroxina.

Quando sustituyeron todo el azúcar de esta dieta adicionada con d-tiroxina por almidón de arroz, el cual constituyó el 72% de la dieta, ningún animal desarrolló cálculos, aunque la degeneración grasa del hígado persistió.

En un trabajo posterior, Bergman y Van der Linden reportan que la formación de estos cálculos no se previene con drogas antidiabéticas, tales como la tolbutamida y la insulina, ni con la sustancia antitiroidea propiltiouracilo. Finalmente, compararon el efecto de los isómeros d- y l-tiroxina, habiendo encontrado que ambos producen tanto cálculos como hígado **graso**.

L-alanina contiene un importante grupo carboxilo en posición 1. El grupo halógeno o el metilo son necesarios en las posiciones 3 y 5. La posición 4' debe estar ocupada por un grupo hidroxilo, un grupo amino o un grupo capaz de la conversión metabólica en hidroxilo. Para una actividad máxima, son necesarios sustituyentes alquil o aromáticos en la posición 3' o tanto en la 3' como en la 5'. Los compuestos 3' monosustituídos son más activos que los 3'-5'-disustituídos. Por este motivo, la triiodotironina es cuatro veces más potente que la tiroxina, y la 3'-isopropil-3,5-diiodotironina tiene 7 veces más actividad.

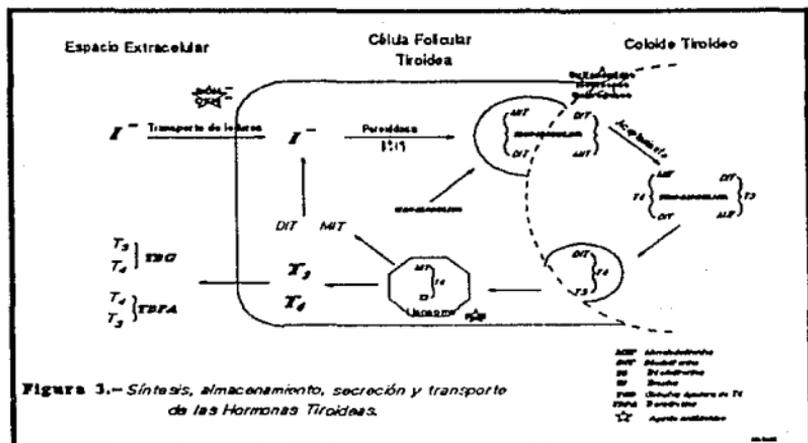


Se ha sugerido que los átomos de yodo son esenciales para la fijación a la Proteína ligadora de tiroxina o TBG, así para el mantenimiento de la conformación activa de la molécula (Haynes & Murad, 1986).

1.3.2 Metabolismo.

1) Síntesis. La T₄ se sintetiza en los folículos de la glándula tiroides. Su proceso de formación puede dividirse en 3 etapas: i) Captación y acumulación de yoduros; ii) Iodinación de la tirosina u Organización; iii) Proteólisis de la tiroglobulina y liberación de la tiroxina (Fig. 3).

i) Captación y acumulación de yoduros. La membrana basal de las células del epitelio folicular tiroideo posee una bomba de yoduros hacia el interior de la glándula. Estos son capturados a partir del yodo inorgánico que circula en la sangre, después de ser absorbido por el tracto gastrointestinal.



ii) Organización. El yoduro acumulado en el epitelio folicular se oxida a I_2 o bien a IO^- , proceso controlado por una peroxidasa, enzima que se encuentra localizada en la membrana apical de dichas células, o en el citoplasma adyacente a éstas. El sustrato para la síntesis de T_4 es la tirosina, que forma parte de una proteína denominada tiroglobulina. La conjugación del yodo con los radicales tirosilo de la tiroglobulina se realiza en el coloides tiroideo, en cuanto la proteína es liberada del Aparato de Golgi; los radicales tirosilo se iodinan inicialmente como monoiodotirosina (MIT) y posteriormente como diiodotirosina (DIT). El acoplamiento de dos moléculas de DIT, produce una cadena lateral de alanina, dando lugar a la formación de trioxina, proceso que puede realizarse en minutos, horas o incluso días.

La triiodotironina, por su parte, se produce por el acoplamiento de una molécula de DIT con una molécula de MIT. Una vez formadas la T_4 y la T_3 se mantienen como parte de la tiroglobulina, proteína que se acumula en el coloides tiroideo. Cada molécula de tiroglobulina contiene de 5-6 moléculas de T_4 , y existe una molécula de T_3 por cada 10 moléculas de T_4 .

iii) Proteólisis y liberación. La superficie apical de las células tiroideas posee pseudópodos que engloban el coloide y lo llevan nuevamente a las células foliculares mediante un proceso semejante a la pinocitosis. Se forman entonces vesículas fagocíticas, donde se realiza la digestión de la tiroglobulina, quedando libres las hormonas tiroideas, las cuales pasan a través de la membrana basal de las células foliculares hasta los capilares sanguíneos.

La tiroxina viaja en el torrente sanguíneo asociada principalmente a la TBG (Globulina Ligadora de Tiroxina) que pertenece a la fracción de alfa-globulinas séricas; ésta tiene una alta afinidad por la tiroxina y sólo una pequeña cantidad de la hormona es transportada por la albúmina y la prealbúmina o transtiretina. La T₃ se liga menos ávidamente a la TBG; la transtiretina también transporta T₃, pero la afinidad de esta proteína por dicha hormona es de un orden de magnitud menor que para la T₄ (Blake, 1977).

El abastecimiento celular de T₃ depende, prácticamente, de la conversión de T₄ en T₃ por la actividad de la 5'-deiodinasa, enzima que se encuentra en dos formas: a) Tipo I (5'-DI), presente en varios tejidos, siendo el hígado y los riñones los cuales poseen en particular grandes cantidades de ésta; b) Tipo II (5'-DII) que al parecer solamente se localiza en la pituitaria anterior, corteza cerebral, grasa parda y placenta.

Las principales fuentes de T₃ son, entonces, la producida por la actividad de la deiodinasa que se encuentra en el hígado, y la T₃ producida por la actividad de la deiodinasa de las mismas células receptoras (Edmonds, 1987).

2) Regulación de los niveles sanguíneos y celulares de hormonas tiroideas. Se realiza por los cambios funcionales de la glándula tiroides. La Tirotropina o TSH es el factor que controla la actividad de la glándula bajo condiciones normales. Esta hormona es una glucoproteína producida por la región *pars distalis* de la hipófisis, y guarda homología con las hormonas FSH y LH, en especial con esta última.

Las hormonas tiroideas ejercen un control de retroalimentación negativa sobre la liberación de la TSH. El hipotálamo, por su parte, modula también la secreción de TSH mediante un tripéptido (piroglutamil-histidil-prolinamida) denominado Factor Liberador de Tirotropina o TRH, que estimula la síntesis de TSH al incrementar el transporte de yodo, la liberación de yodo glandular, la deshalogenación de iodotironina y finalmente, la liberación de la TSH, mediada por un sistema de adenilatociclasa-AMPC que requiere de calcio. Las

hormonas tiroideas inhiben la actividad de la TRH al disminuir la respuesta hipofisiaria a la acción de este factor. Sin embargo, la T₄ activa el sistema enzimático que permite la síntesis de TRH a partir de sus aminoácidos precursores (Ingbar & Woeber, 1977; Turner & Bagnara, 1976).

Existe un mecanismo denominado de autorregulación, que mantiene constantes las reservas de hormonas tiroideas cuando se presenta una variación en el contenido de iodo orgánico, debido a la ingestión de iodo, o por alguna anomalía en la utilización del iodo por la glándula. Este mecanismo consiste en la modificación de la respuesta a la TSH, en contraste con el de la retroalimentación, que actúa sobre concentraciones de hormonas tiroideas en plasma y tejidos. En el hombre, la ingestión de cantidades de iodo superiores a las necesarias, produce una inhibición autorregulada del transporte de iodo, siempre y cuando el iodo sea orgánico. Las respuestas autorreguladas son demostrables cuando los niveles de TSH son constantes (Ingbar & Woeber, 1977).

Al parecer, la regulación de los niveles de hormonas tiroideas a nivel celular se realiza también por mecanismos independientes de la función glandular. Por ejemplo, en muchos tejidos que contienen 5'-DII, la mayor parte de la T₃ celular proviene de la deiodinación de T₄ en las células, propiedad valiosa en el caso de que la concentración de T₃ circulante sea baja. Además, la T₄ y rT₃ modulan la actividad de la 5'-DII, lo cual indica la posibilidad de una compensación celular durante un abastecimiento reducido de T₄. En el hígado parece estar presente alguna forma de autorregulación que limita la conversión de T₄ en T₃, e incluso, la 5'-DI se ve influida por la glucosa y posiblemente por la insulina (Edmonds, 1987).

Se sabe, por otra parte, que algunos estímulos del medio pueden afectar la liberación de las hormonas tiroideas, tales como la temperatura o el estrés emocional y sistémico.

3) **Degradación y excreción.** El hígado es el principal sitio de degradación de las hormonas tiroideas. Tanto la T₄ como la T₃ se conjugan con ácido glucurónico y ácido sulfúrico mediante el grupo hidroxilo presente en el anillo fenólico, y de esta forma son excretadas por la bilis. La circulación enterohepática permite la reutilización de ambas al ser liberadas por hidrólisis en el intestino y posteriormente reabsorbidas. El material que alcanza a llegar al colon sin cambios se hidroliza allí, y se elimina por

las heces. En el hombre, aproximadamente entre el 20 y 40% de la tiroxina se elimina por las heces.

1.3.3 Funciones de las hormonas tiroideas.

Las hormonas tiroideas ejercen sus efectos metabólicos sobre una gran diversidad de procesos bioquímicos y fisiológicos, muchos de los cuales son particularmente evidentes en los estados de hipotiroidismo e hipertiroidismo. Uno de los efectos clásicos de las hormonas tiroideas es la estimulación calorigénica después de un período latente de horas o días, reflejado en un mayor consumo de oxígeno en todo el organismo. Muchas veces este fenómeno va precedido de un incremento en la palpitación cardíaca y disminución en el contenido de glucógeno del corazón, pues al parecer este órgano es un efector directo de la acción de la hormona. Factores como la edad avanzada y el bloqueo adrenérgico condicionan la magnitud del efecto calorigénico de estas hormonas.

Además de incrementar la tasa metabólica general (efecto calorigénico), la hormona tiroidea modula muchas reacciones del metabolismo intermedio. Los efectos de la hormona tiroidea sobre las sustancias energéticas son multifacéticos; pueden influir tanto en la síntesis y degradación de carbohidratos, grasas y proteínas, a la vez que pueden tener efectos opuestos según la acción de cantidades pequeñas o grandes de la hormona. Así, la conversión de glucosa a glucógeno (glicogénesis) es facilitada por cantidades pequeñas de la hormona tiroidea, aunque lo opuesto (glicogenólisis) ocurre con grandes cantidades de la hormona. En general, en el hipertiroidismo el efecto total es a favor de consumir, en vez de almacenar energía.

Las hormonas tiroideas afectan virtualmente todos los aspectos del metabolismo de los carbohidratos, especialmente la utilización acelerada de éstos, presumiblemente como efecto secundario de la demanda calorigénica. La hormona tiroidea acelera la velocidad de absorción de monosacáridos en el tracto digestivo. Las reservas hepáticas de glucógeno disminuyen como consecuencia de una glicogenólisis hepática, y los niveles de glucosa sanguínea tienden a elevarse. También se ha observado un aumento en la gliconeogénesis al suministrarse T_3 (Nutrition Rev., 1988).

El metabolismo de los lípidos también es influido por estas hormonas, principalmente la degradación de éstos, mientras que su síntesis y movilización se ven afectadas en menor medida. Las reservas de lípidos disminuyen en

presencia de concentraciones elevadas de tiroxina, en especial aquellas de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol. La lipólisis que ocurre en el tejido adiposo se incrementa por la actividad de la tiroxina, a través del aumento en la síntesis de AMPc, y a que sensibiliza dicho tejido a otros agentes lipolíticos, tales como las catecolaminas (epinefrina), la hormona del crecimiento, el glucagon y los glucocorticoides. En el hipertiroidismo, por ejemplo, se observan concentraciones plasmáticas elevadas de ácidos grasos libres (Haynes *et al*, 1986).

La síntesis de fosfolípidos mitocondriales se ve incrementada por la T₃ (Tata, 1967). Asimismo, la síntesis hepática de triglicéridos aumenta, y su movilización del plasma se acelera.

Otro efecto clásico de las hormonas tiroideas es la reducción de los niveles de colesterol en el plasma (Haynes *et al*, 1986). Se ha sugerido que esta disminución es debida a un incremento en la síntesis de sales biliares a partir del colesterol, pues en ratas la hormona tiroidea incrementa la actividad de la colesterol 7 alfa-hidroxilasa. Sin embargo, recientemente se ha publicado que en el hombre la disminución en el colesterol sérico encontrada en el hipertiroidismo, no es causada por un incremento en la conversión de colesterol a ácidos biliares (Pauletzy, 1989). Las hormonas tiroideas aumentan la captación de lipoproteínas LDL, por elevar el número de receptores para éstas.

Por otra parte, las hormonas tiroideas afectan los requerimientos de vitaminas y coenzimas del organismo. Así, en el hipertiroidismo la demanda de vitaminas y coenzimas se incrementa y las vitaminas hidrosolubles como la tiamina, riboflavina, B₁₂ y C disminuyen sus concentraciones tisulares. Algunas coenzimas provenientes de vitaminas, requieren de las hormonas tiroideas para ser sintetizadas.

Las hormonas tiroideas tienen un efecto modulador de la respuesta inmune, debido a efectos timotrópicos. Los niveles circulantes de hormona tiroidea están fuertemente correlacionados a las concentraciones de T₃ y T₄; además, estas últimas interactúan también con otras hormonas citoquinéticas involucradas (Marsh *et al*, 1991). En los mamíferos, el hipotiroidismo produce una baja respuesta humoral y celular.

La T₃ induce cambios en la expresión de proteínas membranales de células T, y en la respuesta a mitógenos como la concavalina-A y la fitohemaglutinina. Al parecer, entonces, los efectos de la T₃ se manifiestan tanto en el microambiente que presenta el timo, como en el tráfico a través de éste (Johnson *et al.*, 1991).

Es claro que las hormonas tiroideas ejercen un efecto sobre el metabolismo proteico, aunque el mecanismo mediante el cual la T₃ modula la síntesis proteica aún es incierto (Lazar & Chin, 1990). Los niveles de mRNA y rRNA en animales tiroidectomizados descienden, mientras que la administración de T₃ a ratas intactas lleva a un aumento de la síntesis de RNA nuclear. Este fenómeno indica que el efecto de las hormonas tiroideas se relaciona directamente con la síntesis de RNA (Zern *et al.*, 1982; Guyton, 1989). Las enzimas oxidativas y los elementos del sistema de transporte en la mitocondria, así la ATPasa son algunas de las proteínas principalmente afectadas por el estado tiroideo (Guyton, 1989).

Muchos de los síntomas de la hipersecreción tiroidea son similares a aquellos observados por la activación del sistema nervioso simpático. Este fenómeno es producido, al parecer, debido a la actividad de las hormonas tiroideas en aumentar la respuesta de los tejidos a las catecolaminas (epinefrina y norepinefrina). Esta acción es acompañada presumiblemente de una proliferación específica de los receptores tisulares de catecolaminas, producida por las hormonas tiroideas.

El mismo desarrollo del sistema nervioso central en los niños, y su funcionamiento en el adulto, necesita de las hormonas tiroideas. La velocidad de conducción de los impulsos nerviosos varía en relación directa a la disponibilidad circulante de estas hormonas.

Existe un factor promotor del crecimiento producido por las hormonas tiroideas. La capacidad de estas hormonas para estimular la metamorfosis del renacuajo, es conocida desde hace mucho tiempo. La síntesis de la hormona del crecimiento no sólo se ve estimulada por las hormonas tiroideas, sino también acentúan los efectos de ésta en la síntesis de proteínas estructurales y del crecimiento esquelético, especialmente durante la vida fetal y los primeros años de vida posnatal.

Las hormonas tiroideas también ejercen efecto sobre el metabolismo biliar. Como ya se ha mencionado, la conversión hepática de colesterol en ácidos biliares es una importante vía de eliminación de dicho lípido, y la cinética de este fenómeno depende en buena medida del estado tiroideo (Pauletzky *et al*, 1989). Asimismo, el metabolismo de la bilirrubina varía en función de las hormonas tiroideas. En el hipertiroidismo, los niveles plasmáticos de bilirrubina conjugada se elevan, aunque también se ha observado hiperbilirrubinemia de la forma no conjugada. Estudios en ratas han mostrado efectos tiroideos sobre la actividad de la glucuronosiltransferasa y en el flujo biliar canalicular (Rozman *et al*, 1987; Van Steenberg *et al*, 1989).

Al alterar el metabolismo gonádico, aunado a los cambios que producen sobre las hormonas hipofisarias, la secreción de las hormonas tiroideas puede alterar los ciclos ováricos tanto en la mujer como en algunas hembras, tornándolos irregulares e incluso cesándolos. La deficiencia de las hormonas tiroideas susceptibiliza los ovarios a la formación de quistes, asociados frecuentemente con la infertilidad en la mujer y las hembras de animales domésticos. Se producen defectos de tipo histológico en los testículos de crías de ratas al alimentar a la madre durante la preñez y lactancia con tiouracilo. Por otra parte, cantidades moderadas de la hormona estimulan la espermatogénesis en el conejo, ratón y en el humano, sin que se presente una deficiencia tiroidea. En el humano, el hipotiroidismo disminuye la libido y causa impotencia en el hombre (Turner & Bagnara, 1976; Guyton, 1989).

Una sensación común de los pacientes hipertiroides es el excesivo cansancio; sin embargo, la excitación que al parecer produce la hormona en las sinapsis les dificulta dormir. En cambio, el estado hipotiroideo produce una sensación de somnolencia crónica.

1.3.4 Hipertiroidismo asociado a la función hepática.

Desde 1865 se han descrito en necropsias de pacientes hipertiroides afecciones hepáticas, tanto en su función como en su histología, sin evidencia clara de enfermedad hepática previa.

La patogenia de las afecciones hepáticas que se presentan en el hipertiroidismo no es muy clara. Se ha sugerido que no son un efecto directo de la hormona tiroidea sobre el hígado, sino que son el resultado de otros factores tales como infección, anoxia, toxinas, shock o la combinación de éstos.

Algunas de las anomalías que se han reportado son: hígado graso, atrofia o cirrosis hepática (Shaffer, 1940; Fernández *et al*, 1982), acumulaciones de pigmento osmiofílico, megamitocondrias e irregularidades en las membranas mitocondriales hepáticas; sin embargo, Klion y colaboradores (1971) encontraron los canalículos biliares, el Aparato de Golgi y microcuerpos normales. Por otra parte, Fernández y colaboradores (1981) encontraron la fosfatasa alcalina, la GOT y GTP alteradas, ocupación del REL y rosetas de glucógeno entre las cisternas del mismo, a la vez que formas anormales de mitocondrias; además se ha reportado hiperbilirrubinemia de bilirrubina no conjugada, sugiriéndose un defecto en el metabolismo de este pigmento (Greenberger *et al*, 1964; Van Steegenberg, 1989).

1.4 Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas.

Las hormonas requieren de mecanismos eficientes para que su señal pueda ser conocida e interpretada en el interior de la célula. Los receptores hormonales, situados en la superficie o en el interior de las células tienen dos funciones específicas: diferenciar una hormona de otras y como moléculas reguladoras o "traductoras" de la señal. Los efectos de las hormonas incluyen alteraciones en la actividad enzimática de proteínas preexistentes, así como la síntesis de nuevas proteínas. Se pueden distinguir entonces, varios mecanismos de acción de las hormonas (Chan, 1982; Williams, 1988; Guyton, 1989; Olivares, 1991):

a) **Mediación del paso de iones específicos, i.e., sodio, potasio, cloro y calcio.** La hormona puede activar un receptor de membrana que constituye, por sí mismo, un canal iónico. Al parecer, la activación de estos receptores no requiere de proteínas G o de segundos mensajeros. En otros casos, la regulación del canal iónico se realiza a través de una proteína G (elemento transductor): el receptor es una estructura proteica distinta al canal iónico.

b) **Interacción con receptores membranales que poseen un dominio catalítico en la porción intracelular.** Estos actúan independientemente de proteínas cinasas activadas por AMPc; estos mismos receptores son capaces de iniciar la propagación de la señal al activar una cascada de fosforilaciones y desfosforilaciones.

c) **Receptor de membrana unido a la hormona.** Se produce un segundo mensajero, i.e., el AMPc, el GMPc o el fosfato de inositol; éste a su vez, desencadena una serie de reacciones hasta un sistema efector final. También puede ocurrir que el complejo hormona-receptor permita la entrada de iones Ca^{++} que activen la calmodulina.

d) **Regulación a nivel nuclear.** Algunos receptores de estas hormonas no se localizan en la membrana plasmática, sino en el citosol y en el núcleo celular; la unión de la hormona al receptor altera la síntesis o degradación del RNA, debido a que el complejo hormona-receptor interactúa directamente con el DNA. Los receptores localizados en el citoplasma por lo regular, permiten la difusión de la hormona hasta el núcleo celular, donde activan el proceso de transcripción de genes; por su parte, los receptores nucleares se localizan en el complejo cromosómico, sitio en el que se unen

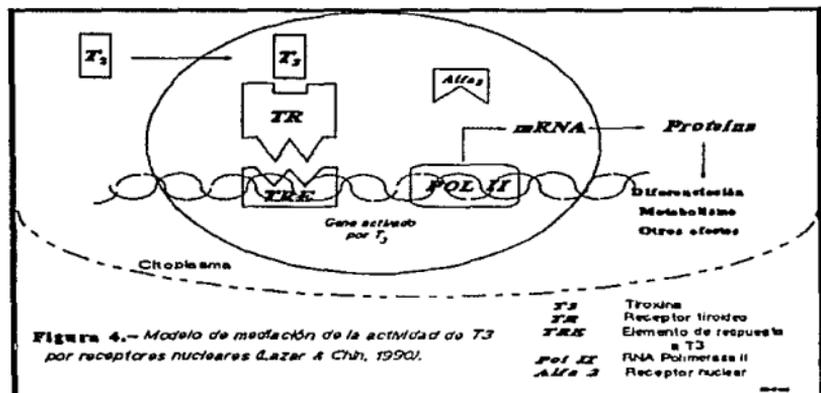
la hormona. Estas acciones hormonales comienzan por lo regular en forma tardía y se pueden expresar durante días y hasta semanas.

Existen receptores citosólicos de hormonas tiroideas; sin embargo, estas proteínas sólo concentran la hormona en dentro de la célula, pero no la difunden en ella, pues las hormonas tiroideas libres se unen directamente a los receptores nucleares. También existen receptores tiroideos mitocondriales que median efectos en el consumo de oxígeno.

Los receptores nucleares de las hormonas tiroideas son proteínas ácidas que pueden unirse al DNA, aunque reciben la influencia de las histonas. Estos receptores poseen 3 dominios: el que se une al ligando, el dominio que se une al DNA y el que activa el genoma. La porción del gene al cuál se une el complejo receptor-ligando, se denomina RE o Elemento de Respuesta (Nut.Rev., 1989). La unión del complejo TR-T₃ a su RE activa la transcripción del gene, y aunque el mecanismo por el cual se lleva a cabo esta activación aún no es claro, por analogía con factores de transcripción, los TRs podrían interactuar con la maquinaria de transcripción celular, por medio de su dominio activador, el cual posiblemente se localiza en la porción media de los TRs.

Recientemente se ha demostrado la formación in vitro de heterodímeros de TR-RAR (Receptor de Acido Retinoico). De este modo, se ha identificado un posible dominio de dimerización en los TRs y RARs, cercano al dominio de unión al ligando, formado por un "zipper" de leucina hidrofóbico, aunque aún no es claro si los TRs y RARs forman homodímeros, y si este hecho es necesario para la unión al DNA y/o la activación transcripcional. La unión de los TRs a los TREs parece ser estimulada por proteínas nucleares aún no identificadas, y cuyas funciones fisiológicas son desconocidas (Fig. 4; Murray, 1989; Burnside, 1990; Lazar & Chin, 1990).

La T₃ influye en la expresión de muchos genes en diversos grados, por lo que al parecer existen una multitud de RE con los cuales el Receptor de Tiroxina actúa. Estos elementos se denominan TRE o Elementos de Respuesta a la Tiroxina, aunque se sabe que no solamente responden al receptor tiroideo.



1.5 Relación Vitamina A-Hormonas de la Tiroides.

Tanto las Hormonas Tiroideas como la Vitamina A son moléculas insolubles en agua, que requieren de proteínas ligadoras específicas en el plasma y en el citosol celular para alcanzar sus sitios de acción.

Las interacciones entre la Vitamina A y las Hormonas Tiroideas se conocen desde hace más de medio siglo. Así, se sabe que ocurre una hiperactividad de la tiroides en deficiencia de Vitamina A, y que los requerimientos de esta vitamina aumentan en el hipertiroidismo (Nutr. Rev. 1979)

Se ha sugerido que la Vitamina A modula la conversión periférica de T₄ en T₃ debido a que se ha encontrado un incremento en el volumen de distribución de T₃ en ratas alimentadas con un exceso de Vitamina A (Garcin *et al*, 1984), así como un decremento en los niveles de T₄ en el suero al ser administrada como palmitato de retinol. Por otro lado, el exceso de Vitamina A suprime la actividad de la UDP- glucuronosiltransferasa en la rata; este efecto se minimiza en animales tiroidectomizados, lo cual sugiere que esta actividad de la Vitamina A depende de la presencia de T₃ (Rozman *et al*, 1987).

Tanto la Vitamina A como las Hormonas Tiroideas tienen efectos notables sobre el desarrollo, crecimiento y homeostasis de los vertebrados, afectando y modulando la expresión genética. La forma activa de la Vitamina A, el ácido retinoico, tiene al igual que la T₃ un receptor nuclear. Ambos receptores pertenecen a una superfamilia de receptores, entre los que se encuentran aquellos que ligan mineralcorticoides, andrógenos o Vitamina D. El RAR o Receptor de Acido Retinoico, que guarda una gran semejanza con el TR -sus dominios de unión al DNA muestran una similitud del 62% (Nutr. Rev., 1989)-, puede ligar y activar la transcripción de genes que contienen TRE (Umesono, 1988; Bedo, 1989). De hecho, el complejo ácido retinoico-RAR activa el gene que codifica la hormona de crecimiento (GPH) sinérgicamente con la hormona tiroidea (Nut.Rev., 1989). Además, en ausencia del ácido retinoico, el RAR inhibe la expresión de genes activados por T₃ (Lazar & Chin, 1990). Sin embargo, el primer RE para el ácido retinoico reportado, el que se encuentra en el gene laminin B₁, no se ve afectado por la expresión de ningún receptor tiroideo en presencia de T₃ (Vasios,1989), lo cual indica que estos receptores poseen distintos sitios de unión al DNA, probablemente sobrepuestos.

Segunda Parte.

2.0 Sección experimental.

2.1 Objetivos.

En este trabajo se determinó el efecto de la L-triiodotironina (T₃) sobre la litogenicidad de la Vitamina A, así como su posible litogenicidad *per se* al adicionarse a una dieta básica de mantenimiento.

Asimismo, se cuantificó el efecto de la Vitamina A, de la L-triiodotironina y de la combinación de ambas sobre el flujo biliar, lípidos biliares *i.e.*, colesterol, ácidos biliares y fosfolípidos, así como su efecto sobre el colesterol sérico total, con el fin de determinar si hay o no una asociación entre estos parámetros y la colelitiasis.

2.2 Material y Métodos.

Se realizaron dos experimentos en los cuales se emplearon jámsteres dorados machos de la cepa ChCM recién destetados, procedentes de la colonia del Bioterio de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

Los animales fueron mantenidos en jaulas experimentales de hierro galvanizado, con piso de malla metálica y alimentados *ad libitum* con las diferentes dietas y agua corriente. En ambos experimentos la dieta básica fue Nutricubos Purina para Roedores Pequeños (Purina S.A., México D.F.) pulverizados. Durante el período experimental los animales fueron pesados semanalmente para determinar sus curvas de crecimiento.

2.2.1 Primer experimento.

Se establecieron 3 grupos experimentales, de 20 animales en cada uno, de 43 días de edad promedio, a los cuales se les alimentó durante 70 días con las siguientes dietas: Grupo 1, Dieta Básica; Grupo 2, Dieta Básica + 25 000 UI% de acetato de retinol, tipo 500 (Productos Roche S.A., México D.F.), la cual constituyó la Dieta Litogénica; Grupo 3, Dieta Litogénica + 100 mcg% de sal de sodio de L-triiodotironina ("Cynomel" de Smith Kline & French S.A., México, D.F.).

Al final de este período experimental, los animales fueron puestos en ayuno por 12 horas; posteriormente se les anestesió con éter y se sangraron por punción cardíaca con jeringas desechables de 3 ml y agujas 25G para determinar colesterol en suero. Inmediatamente después fueron sacrificados por fractura de nuca y necropsiados. Se colectó bilis vesicular y se disecó el hígado, el cuál se conservó a 0°C hasta el momento de determinar el contenido de Vitamina A.

2.2.2 Segundo Experimento.

Se formaron 4 grupos experimentales, con 20 animales en cada uno, de 91 días de edad promedio. Estos grupos se alimentaron durante 70 días con las siguientes dietas: Grupo I, Dieta Básica; Grupo II, Dieta Básica + 25 000 UI% de acetato de retinol, tipo 500 (Dieta Litogénica); Grupo III, Dieta Litogénica + 40 mcg% de sal de sodio de L-triiodotironina; Grupo IV, Dieta Básica + 40 mcg% de sal de sodio de L-triiodotironina.

Al término de este período experimental, los animales se anestesiaron con pentobarbital ("Anestical" de Smith Kline & French S.A.) inyectado intraperitonealmente a dosis de 5mg/100g de peso corporal. Se hizo una incisión ventral media de aproximadamente 1cm, a través de la cual se aisló el conducto colédoco y se colocó en él una cánula de polietileno con diámetro interno de 0.3 mm y diámetro externo de 0.7 mm (Biotrol S.A., París, Francia). Una vez canulados, los animales se inmovilizaron atándolos sobre una gradilla, y se colectó la bilis durante 2 horas en tubos previamente pesados para la determinación gravimétrica del flujo biliar. Una vez colectada la bilis, los animales fueron sangrados por punción cardíaca. Inmediatamente después se sacrificaron por fractura de la nuca, y se practicaron las necropsias; además se diseccionó el hígado y se conservó a 0°C.

Se determinaron Vitamina A hepática y colesterol sérico; la bilis se analizó para ácidos biliares totales, colesterol y fosfolípidos.

2.2.3 Análisis Bioquímicos.

Colesterol en suero y bilis.

El colesterol en el suero y en la bilis se determinó por el método colorimétrico de Abel y colaboradores (1952), de la siguiente manera: 0.2 ml de suero o 0.075 ml de bilis se saponificaron a 40°C durante 55' con 2 ml de una solución alcohólica de KOH (94 ml de alcohol absoluto más 6 ml de una solución de KOH al 30%); esta mezcla se llevó luego a temperatura ambiente y se agregaron 4 ml y 1 ml de hexano para la determinación en suero y bilis, respectivamente, habiéndose agitado vigorosamente en un vórtex. Se añadieron 2 ml al suero y 1 ml a la bilis de agua, se agitaron nuevamente y se centrifugaron a 2000 rpm durante 5' en una centrifuga Beckman TJ-6 con unidad de refrigeración TJ-R. Se tomaron alícuotas de 1 ml (suero) y 0.8 ml (bilis) del extracto de hexano, las cuales se evaporaron con aire. Posteriormente, se les agregó 1 ml de Reactivo de Liebermann-Burchard para colesterol, se agitaron en vórtex y se colocaron en un baño a 37°C durante 10'; finalmente se determinó la absorbancia a 580 nm contra el Reactivo L-B en un espectrofotómetro Spectronic 21 UVM (Baush & Lomb). Se empleó una solución de colesterol en ácido acético glacial como estándar, el cual fue tratado igual que la muestra.

Preparación del Reactivo de Liebermann-Burchard: Todos los reactivos base se mantuvieron en baño de hielo antes y durante la preparación, para mantenerlos entre 0 y 4°C. A 300 ml de ácido acético glacial se les agregaron, con agitación magnética constante, 600 ml de anhídrido acético, seguidos por 100 ml de ácido sulfúrico concentrado. A esta mezcla se le agregaron 20 g de sulfato de sodio anhidro y 10 g de ácido 2,5-dimetilbenzensulfónico. El Reactivo L-B se almacenó en una botella ámbar a 4°C.

Vitamina A Hepática.

El contenido de Vitamina A Hepática se determinó mediante el Método Espectrofotométrico de Olson (1979), de la siguiente manera: el hígado fue pesado en una balanza analítica Mettler A30, y picado finamente hasta formar una mezcla homogénea. En un vial de 25 ml con tapón de rosca se colocó una alcuota de 0.5 g a la que se le agregó 1 g de sulfato de sodio anhidro, macerándolo hasta obtener una mezcla de consistencia pastosa, a la cual se le adicionaron 5 ml de cloroformo; el vial se cerró y se mantuvo a 0°C durante toda la noche. A continuación, una alcuota de 25 a 300 µl del extracto cloroformico se llevó hasta 3 ml con etanol absoluto. Cada muestra se leyó a 280, 330 y 380 nm de absorbancia en un espectrofotómetro Zeiss PMQII. Finalmente, el contenido de Vitamina A se cuantificó con la siguiente fórmula:

$$Abs_{330} \text{ corr} = 0.5 \frac{[(2.27 \times Abs_{330}) Abs_{380} - Abs_{280}]}{21}$$

$$\text{Mcg Retinol / g Híg.} = \frac{Abs \text{ corregida} \times \text{Factor de Dilución}}{0.1835}$$

Abs corr	Absorbancia corregida
Híg.	Hígado
0.1835	Coficiente de extinción molar de retinol

No se determinó la absorbancia a 450 nm, como lo indica el Método de Olson, ya que en un estudio preliminar se observó que en los extractos de hígado de jámster en experimentación no hay absorbancia a esta longitud de onda, lo que indica la ausencia de carotenos en el hígado que pudieran interferir con la determinación de Vitamina A.

Fosfolípidos.

El método empleado fue el de Barlett (1959), de la siguiente manera: A 0.1 ml de bilis se añadieron 1.5ml de una mezcla CHCl₃-metanol (2:1) y 1 ml de agua desionizada, agitándose vigorosamente en un vórtex; se centrifugó por 5' a 1500 rpm y se desechó el sobrenadante. Luego se tomó una alícuota de 0.4 ml de cloroformo por duplicado, las cuales se evaporaron con aire, en baño maría, entre 40 y 50°C. A los extractos evaporados se les agregó 0.2 ml de H₂SO₄ 10 N, y se colocaron en una mufla durante tres horas a temperatura entre 150 y 160°C. Una vez fría la muestra, se agregaron 2 gotas de agua oxigenada y se colocaron nuevamente en la mufla durante 1 hr, a la misma temperatura. A la muestra digerida se agregaron 0.75 ml de agua desionizada más 2 ml de solución al 5% de molibdato de amonio tetrahidratado [(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O] y 0.05 ml de Reactivo de Fiske-Subbarow (0.2g de ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico, 2.4 g de sulfito de sodio y 12.0 g de metabisulfito de sodio se disuelven en agua y se aforan a 100 ml). Después de agitar vigorosamente la muestra, se colocó en un baño de agua hirviendo durante 7 minutos. Finalmente se determinó la absorbancia a 700 nm en un espectrofotómetro Spectronic 21 UVM (Baush & Lomb). Se utilizó una solución estándar de KH₂PO₄ con 0.08 mg de fosfato por ml (Sigma de México S.A. México, D.F.).

Acidos Biliares.

Se empleó una modificación de los métodos de Turley y Dietschy (1978) y de Coleman *et al* (1979), como a continuación se indica: 50 mcl de bilis se diluyeron con 450 mcl de metanol. Se colocan 0.1 ml de bilis-metanol en tubos de 10 ml por triplicado (2 para muestras y 1 para blanco). A los 3 tubos de cada muestra se les agregó lo siguiente: 1.5 ml de Tris-HCl pH 9.5, 1 ml de 1 M de sulfato de hidrazina a pH 9.5 y 0.3 ml de 1 mM de NAD a pH 7.0. A los tubos de muestra se les agregó 0.1ml de una solución de 3-alfa hidroxisteroide deshidrogenasa (3HSD) en 10 mM Tris- 1 mM de EDTA a pH 7.2 (2U/ml).

Al tubo blanco se le agregó 0.1 ml de Tris EDTA a pH 7.2, en vez de la enzima.

Se incubaron por una hora a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 340 nm contra un blanco de reactivos.

El análisis estadístico de los resultados se hizo por pruebas de xi-cuadrada y t de Student.

2.3 Resultados.

2.3.1 Primer experimento.

Los resultados del primer experimento, que se presentan en el Cuadro 2, indican que los animales alimentados con la dieta litogénica (Grupo 2) exhibieron un bajo porcentaje de cálculos (15%), mientras que al suministrarse ésta adicionada con 100 mcg% de T₃ (Grupo 3), la frecuencia de colelitiasis aumentó significativamente ($P < 0.001$). Se puede observar también que, el promedio de la masa de cálculos en los animales que recibieron Vitamina A y T₃ (Grupo 3) fue 10 veces mayor que en los animales que sólo recibieron Vitamina A (Grupo 2).

Cuadro 2.—Frecuencia de Colelitiasis.
Primer Experimento

Grupos	Dieta	No. de Animales con cálculos	% Animales con cálculos	Fase promedio de los cálculos mg
1	Nutribon Purina Dieta Básica (DB)	19	0	—
2	DB+25,000 UIA escato de retinol Dieta Litogénica (DL)	20	3	0.05
3	DL+100 mcg% ani de ácido de triiodotironina.	16	15	0.54

El efecto de la T₃ sobre la Vitamina A hepática se presenta en el Cuadro 3, el cual indica que existe una diferencia significativa ($P < 0.001$) en la concentración de Vitamina A hepática entre el grupo alimentado con Vitamina A (Grupo 2, litogénico) y el control normal (Grupo 1), así como entre éste último y el grupo al que se adicionó T₃ (Grupo 3; $P < 0.001$). Al comparar la Vitamina A sola (Grupo 2) y la combinación de ésta con T₃ (Grupo 3), se observa que la T₃ disminuye el contenido de Vitamina A por gramo de hígado ($P < 0.05$); sin embargo, este efecto se revierte en el contenido total de Vitamina A, el cual es significativamente mayor en el grupo que recibió ambas sustancias (Grupo 3).

Cuadro 3.-Vitamina A Hepática y Pesos Porcentuales de Organos Primer Experimento						
Grupos	Dietas	Peso corporal g (n)	Peso porcentual		Vitamina A Hepática	
			Hígado g/100gpp (n)	Corazón g/100gpp (n)	mcg/g Hígado (n)	mcg/Hígado (n)
1	Nutrición Purina Dieta Balanceada (DB)	98.0	2.8	0.98	92.9	424.4
		Sd 12.54 (20)	Sd 0.03 (12)	Sd 0.03 (12)	Sd 49.2 (12)	Sd 180.5 (12)
2	DB+25,000 UI/V acetato de retinol Dieta Litogénica (DL)	92.0	2.8	0.93	1,796.2*	4,716.2*
		Sd 7.74 (20)	Sd 0.23 (12)	Sd 0.03 (12)	Sd 466.1 (12)	Sd 1,376.6 (12)
3	DL+100 mcg/V as/da acido de triiodotironina.	825.1	5.0*	0.66*	1,277.4:	6,014.8*
		Sd 11.16 (6)	Sd 0.17 (6)	Sd 0.03 (6)	Sd 320.6 (6)	Sd 1,617.7 (6)

*P<0.001 vs Grupo 1

: P<0.02 vs Grupo 1

: P<0.05 vs Grupo 2

Asimismo, el Cuadro 3 muestra que el peso porcentual del hígado de los animales que recibieron Vitamina A adicionada con T₃ (Grupo 3), es mayor que el de los alimentados con Vitamina A sola (Grupo 2, P< 0.001), en tanto que el peso porcentual del hígado que exhibieron estos últimos (Grupo 2), es similar al de los animales que recibieron la dieta normal de mantenimiento (Grupo 1). De igual manera, la combinación de la Vitamina A y la T₃ (Grupo 3) aumentó significativamente el peso porcentual del corazón, al compararlo con el de los grupos restantes (P< 0.001 en ambos casos).

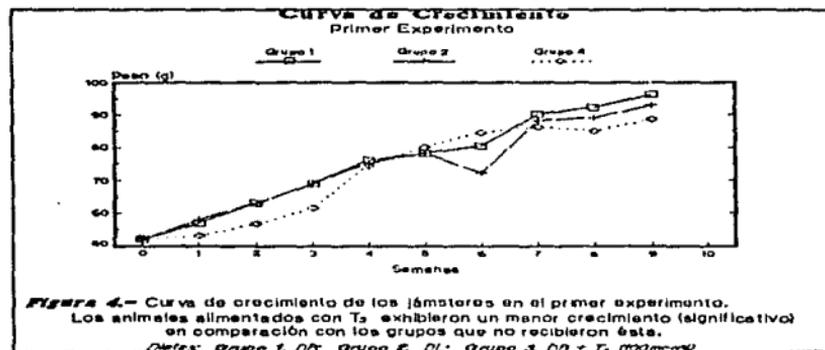
En cuanto al análisis de colesterol, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 4, se puede observar un incremento en el colesterol sérico de los animales alimentados con la dieta litogénica adicionada con T₃ (P< 0.001). En el caso del colesterol biliar, la Vitamina A sola (Grupo 2) disminuye considerablemente la concentración de éste (P< 0.001), mientras que la combinación de Vitamina A y T₃ tiende a contrarrestar dicho efecto (P< 0.05).

En cuanto al crecimiento, los resultados se presentan como promedio de peso corporal semanal en la curva de crecimiento obtenida que se muestra de la Figura 4; en ella podemos observar que el grupo 3 (Vitamina A más T₃) exhibió el menor incremento de crecimiento, siendo la diferencia al final del período experimental de 14 gramos a favor

del grupo control (Grupo 1; $P < 0.02$), y de 10 gramos a favor del Grupo 2 ($P < 0.05$).

Cuadro 4.- Colesterol en Suero y Bilis Vesicular Primer Experimento			
Grupos	Dietas	Colesterol Sérico mg/dl (n)	Colesterol Biliar mg/dl (n)
1	Nutrición Purina Dietas Básicas (DB)	58.8 Sd 17.6 (12)	157.2 Sd 38.9 (6)
2	DB+25,000 U/m extracto de ratón Dietas Lipoquinés (DL)	58.9 Sd 7.0 (12)	87.1 Sd 16.4 (6)
3	DL+100 mg/kg Sd de ácido de hidrocloruro.	87.0 * Sd 7.8 (12)	94.2 * Sd 3.97 (6)

* $P < 0.05$ vs Grupo 1 * $P < 0.05$ vs Grupo 2



El nivel de T₃ suministrado provocó síntomas serios de toxicidad, y solamente 6 animales sobrevivieron hasta el final del período experimental. Durante el curso del experimento 2 jammers murieron al inicio de la 7a semana, uno de los cuales no exhibió cálculos y 8 murieron durante la 8a y 9a semanas; a la necropsia se observó en todos los animales degeneración grasa del hígado e hipoplasia testicular; algunos presentaron también hidrotórax.

Entre la 2a y 3a semanas murieron 4 animales del grupo 3, los cuales no fueron considerados para calcular de la frecuencia de coleditiasis.

2.3.2 Segundo experimento.

En este experimento el nivel de T₃ se redujo a 40 mcg% en la dieta, debido a los efectos tóxicos observados durante el primer experimento.

En relación a la frecuencia de cálculos, los resultados que se presentan en el Cuadro 5 muestran que la Vitamina A produjo un solo animal con cálculos (Grupo II) y la T₃ sola no produjo coleditiasis (Grupo IV), mientras que al suministrar Vitamina A y T₃ juntas (Grupo III) se presentó una alta frecuencia de animales con cálculos (P < 0.01).

Grupos	Dieta	No. de Animales con cálculos	Animales	% Animales con cálculos	Colesterol Sérico mg/dl (r)
I	<i>Nutrición Purina Dieta Básica (DB)</i>	20	0	0	76.0 Ed 22.0 119
II	<i>DB + 25,000 UIA acetato de retinol Dieta L. Roginski (DI)</i>	20	1	5	68.0 Ed 21.0 (12)
III	<i>DI + 40 mcg% sal de selenio de triiodotironina.</i>	20	15	75	99.0 ± Ed 18.0 (12)
IV	<i>DI + 40 mcg% sal de selenio de triiodotironina.</i>	20	0	0	104.0 ± Ed 13.0 (12)

Al igual que en el primer experimento, la Vitamina A (Grupo II) elevó 10 veces las reservas hepáticas de Vitamina A con respecto a los animales que recibieron dieta de normal de mantenimiento (Grupo I). La T₃ sola (Grupo IV) disminuyó la Vitamina A hepática por gramo de hígado con respecto al control normal (P < 0.001); sin embargo, aumentó ligeramente la cantidad total de acetato de retinol hepático (P < 0.05). El mismo efecto se observó al comparar el grupo con T₃ y Vitamina A (Grupo III) con el de Vitamina A sola (Grupo II), como puede observarse en el cuadro 6.

Grupos	Dietas	Peso corporal		Peso porcentual		Vitamina A Hepática	
		g (t)	Hígado g/100gpp (t)	Corazón g/100gpp (t)	mg/g Hígado (t)	mg/Hígado (t)	
I	Nutrición Pura Dieta Básica (DB)	106.0	2.9	0.91	196.8	620.1	
		Sd 9.2 (20)	Sd 0.30 (19)	Sd 0.11 (18)	Sd 40.9 (19)	Sd 97.3 (19)	
II	DB+25,000 UIX extracto de retina Dieta Lipopéptica (DL)	104.8	3.2*	0.88	1,879.1	8,249.0	
		Sd 13.1 (20)	Sd 0.41 (19)	Sd 0.08 (18)	Sd 366.7 (19)	Sd 1,055.2 (19)	
III	DL+40 mcg% sal de sodo de triiodotironina.	107.4	3.3I	0.80*	1,421.7I	7,912.0I	
		Sd 8.57 (20)	Sd 0.47 (19)	Sd 0.06 (19)	Sd 366.7 (19)	Sd 1,062.0 (19)	
IV	DB+40 mcg% sal de sodo de triiodotironina.	104.1	4.7I	0.47*	154.4I	879.1*	
		Sd 7.5 (20)	Sd 1.2 (19)	Sd 0.16 (16)	Sd 22.5 (17)	Sd 76.6 (17)	

* P<0.001 vs Grupo I † P<0.05 vs Grupo I ‡ P<0.05 vs Grupo I § P<0.001 vs Grupo I

Respecto a los parámetros biliares analizados, los resultados que integran el Cuadro 7 muestran un efecto colerético ligero producido por la Vitamina A, y muy marcado por la T₃ (Grupos II y IV). La combinación de ambas (Grupo III) elevó notablemente el efecto colerético, superior al producido por la T₃ sola.

Grupos	Dietas	Flujo Biliar		Sales biliares		Fosfolípidos	
		mg/ml/hora/ml (t)	mg/dl (t)	mM (t)	mgPAMl (t)		
I	Nutrición Pura Dieta Básica (DB)	2.7	62.9	17.8	11.9		
		Sd 0.6 (19)	Sd 11.3 (12)	Sd 2.8 (6)	Sd 2.0 (10)		
II	DB+25,000 UIX extracto de retina Dieta Lipopéptica (DL)	4.1	26.2 ^v	7.9 ^v	7.4 ^v		
		Sd 1.4 (12)	Sd 6.0 (14)	Sd 1.3 (19)	Sd 2.3 (19)		
III	DL+40 mcg% sal de sodo de triiodotironina.	11.7	32.4 ^h	12.0 ^h	12.1 ^o		
		Sd 1.9 (12)	Sd 6.8 (14)	Sd 2.7 (12)	Sd 2.1 (15)		
IV	DB+40 mcg% sal de sodo de triiodotironina.	7.0	82.7	16.8	18.8		
		Sd 1.2 (13)	Sd 9.0 (6)	Sd 3.8 (12)	Sd 4.1 (19)		

° P<0.001 vs Grupo I † P<0.05 vs Grupo I ‡ P<0.001 vs Grupo I

Los jámsteres que recibieron Vitamina A sola (Grupo II), presentaron una marcada reducción en las concentraciones de lípidos biliares en relación con el Grupo I ($P < 0.001$). La T₃ sola (Grupo IV) no afectó las concentraciones de colesterol ni de ácidos biliares al compararla con las de los animales controles (Grupo I); sin embargo, produjo un aumento de los fosfolípidos ($P < 0.05$). La combinación de Vitamina A y T₃ (Grupo III) tendió a contrarrestar la reducción de los lípidos biliares provocada por la Vitamina A sola (Grupo II; Cuadro 7), siendo este efecto ligero con el colesterol ($P < 0.02$), moderado con las sales biliares ($P < 0.001$), y completo con los fosfolípidos ($P < 0.001$). Sin embargo, al calcular la secreción de bilis y de lípidos biliares por unidad de tiempo por 100 g de peso corporal (Cuadro 8), la Vitamina A sola (Grupo II) redujo sólo ligeramente la secreción de colesterol y la de sales biliares ($P < 0.001$ y $P < 0.05$, respectivamente), pero la de fosfolípidos no fue significativamente afectada. Por otra parte, la T₃ sola (Grupo IV) y combinada con Vitamina A (Grupo III) aumentó significativamente, las concentraciones de lípidos biliares ($P < 0.001$).

Cuadro 8.-Lípidos y Flujo Biliar Hepático.

Segundo Experimento

Grupos	Dietas	Flujo Biliar	Colesterol	Sales biliares	Fosfolípidos
		mg/ml/100gpc (\bar{x})	mg/dl/100gpc (\bar{x})	mM/min/100gpc (\bar{x})	mcg/ml/100gpc (\bar{x})
I	Nutrición Purina	2.4	1.8	81.2	0.32
	Dieta Básica (DB)	Sd 0.6 (19)	Sd 0.43 (19)	Sd 11.8 (6)	Sd 0.09 (9)
II	DB+25,000 UI% acetato de retinol	5.8	0.98*	7.8**	0.33
	Dieta Litogénica (DL)	Sd 1.0 (12)	Sd 0.25 (12)	Sd 8.8 (10)	Sd 0.13 (6)
III	DL+40 mcg% sal de sodio de triiodotironina.	11.1	3.6‡	111.9‡	1.33‡
		Sd 2.0 (19)	Sd 0.77 (19)	Sd 26.9 (9)	Sd 0.34 (6)
IV	DB+40 mcg% sal de sodio de triiodotironina.	6.8	4.3‡	113.4‡	1.18‡
		Sd 1.3 (13)	Sd 1.3 (13)	Sd 25.4 (10)	Sd 0.37 (9)

* $P < 0.05$ vs Grupo I** $P < 0.01$ vs Grupo I‡ $P < 0.001$ vs Grupo I

Como la administración de la hormona y de la vitamina alteró el peso del hígado de los animales, los datos del Cuadro 9 se expresan en función del peso del hígado, donde se observa que por gramo de hígado, la Vitamina A (Grupo II) produjo un efecto colerético similar al producido por la T₃ (Grupo IV), y la combinación de ambas, también en este caso, produjo el más notable efecto. En lo que respecta a las cantidades de lípidos biliares secretados por gramo de hígado por unidad de tiempo, los resultados son similares a los expresados por peso corporal por unidad de tiempo, aunque las diferencias son menos marcadas.

Grupos	Dietas	Flujo Biliar	Coolesterol	Sales Biliares	Fosfolípidos
		mg/min/gHfg (n)	mg/dlgHfg (n)	mM/min/gHfg (n)	mcg/min/gHfg (n)
I	Nutrición Purina	0.87	0.54	17.5	0.11
	Dieta Básica (DB)	Sd 0.17 (19)	Sd 0.13 (19)	Sd 3.7 (9)	Sd 0.02 (9)
II	DB+25,000 UI% acetato de retinol	1.28	0.29*	13.2*	0.10
	Dieta Likopínica (LU)	Sd 0.40 (19)	Sd 0.14 (19)	Sd 3.7 (10)	Sd 0.04 (9)
III	DL+40 mcg% sal de sodio de triiodotironina.	2.10	0.85°	21.1	0.25°
		Sd 0.38 (19)	Sd 0.14 (19)	Sd 5.15 (9)	Sd 0.06 (19)
IV	DB+40 mcg% sal de sodio de triiodotironina.	1.40	0.89°	23.8	0.24°
		Sd 0.30 (19)	Sd 0.25 (19)	Sd 4.1 (10)	Sd 0.07 (9)

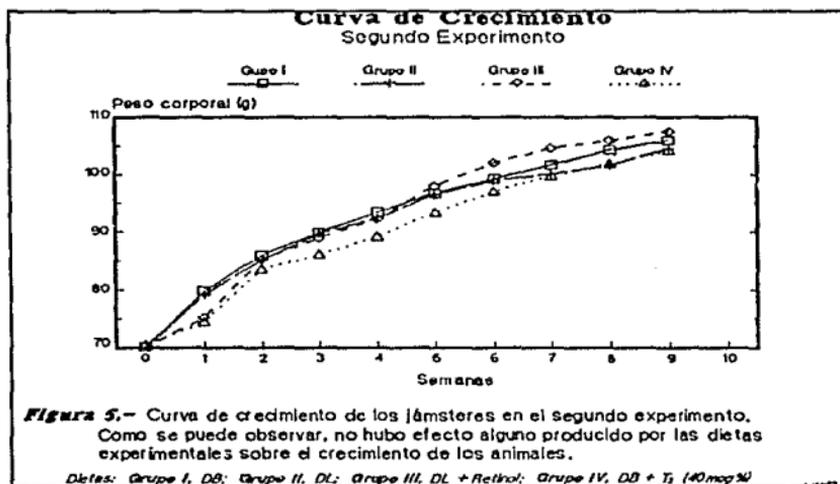
°P<0.001 vs Grupo I *P<0.001 vs Grupo I

El colesterol sérico (Cuadro 5) no se vió afectado por la Vitamina A sola (Grupo II), pero la T₃ sola (Grupo IV) lo elevó significativamente (P< 0.001). La Vitamina A disminuyó el efecto hipercolesterolémico de la T₃ al ser administrada junto con ésta (Grupo III), aunque la diferencia de concentraciones no fue significativa.

La T₃ sola y suministrada con Vitamina A (Grupos IV y III) produjo una marcada hepatomegalia (P< 0.001), mientras que los animales que recibieron Vitamina A sola (Grupo II), tuvieron un peso porcentual del hígado ligeramente

mayor al del grupo control ($P < 0.01$). Asimismo, el peso porcentual del corazón fue significativamente mayor en los grupos que recibieron T_3 (Grupos III y IV; Cuadro 6).

En lo que respecta al crecimiento de los animales (Figura 5), no hubo diferencias significativas entre los 4 grupos.



2.4 Discusión.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo han mostrado que la L-triiodotironina adicionada a una dieta de mantenimiento, a los niveles de 100 y 40 mcg% potencializa notablemente la acción litogénica de la Vitamina A. Además, se ha demostrado que la T₃ al nivel de 40 mcg% no es litogénica *per se*.

El mecanismo por el cual la T₃ potencializa la acción de la Vitamina A aún no se conoce; esta potencialización se debe a que la T₃ aumenta la acción de esta vitamina en una u otra forma. Los resultados aquí presentados muestran un efecto colerético producido tanto por la Vitamina A como por la T₃, el cual es aditivo al suministrarlas juntas; sin embargo, la colestasis y no la coleresis ha sido considerada como un factor que predispone a la colelitiasis (Strichartz *et al*, 1988).

Por otro lado, los efectos de la Vitamina A y la T₃ sobre la concentración de los lípidos biliares fueron diferentes: mientras que la Vitamina A redujo tanto el colesterol como las sales biliares y los fosfolípidos, la T₃ sola incrementó ligeramente la concentración de fosfolípidos y no afectó las concentraciones de colesterol y sales biliares; al suministrarlas juntas, la T₃ contrarrestó el efecto reductor de la Vitamina A. Lo anterior puede deberse probablemente a que la Vitamina A aumenta notablemente el flujo biliar independiente de sales, pero no afecta el flujo dependiente de éstas, puesto que la secreción de lípidos biliares por unidad de tiempo es similar o sólo ligeramente inferior a la de los animales controles, aunque la secreción total de bilis aumenta significativamente.

Por su parte, la T₃ parece incrementar el flujo dependiente de sales biliares, pues hay un gran incremento tanto del flujo biliar como de la secreción de sales biliares; a este respecto se ha reportado que en la rata, la T₃ estimula principalmente el flujo biliar independiente de sales, pero también el dependiente de ellas, aunque este último en menor grado, a pesar de haber un incremento significativo en la secreción de sales biliares (Layden & Boyer, 1976). Por lo anterior, es probable que en nuestros animales haya ocurrido lo mismo, desafortunadamente no fue posible determinar si al suministrar T₃ el flujo independiente de sales biliares se encontraba también aumentado, para lo cual se requiere ver la secreción biliar asociada a la de un metabolito que se excrete por esta vía y no se reabsorba en los ductos biliares, tal como el eritritol.

La potencialización de la colelitiasis por la T₃ puede deberse a que aumente las concentraciones biliares de otras sustancias que forman parte de éste tipo de cálculos, tales como el calcio, las protefnas, la bilirrubina y/o el fósforo inorgánico, los cuales no fueron analizados en este estudio. En este sentido, se ha reportado un aumento en las concentraciones biliares de calcio en el perro de las praderas alimentado con dietas litogénicas (Strichartz *et al*, 1988; 1989), y una relación inversa entre el contenido de calcio hepático, la T₃ plasmática y la proporción T₃/T₄ en ratas con daño hepático (Itoh *et al*, 1988).

El transporte de bilirrubina conjugada también sufre alteraciones dependientes del estado tiroideo: en ratas con hipertiroidismo se ha observado un decremento en la proporción de compuestos diconjugados/monocongugados de bilirrubina en la bilis, debido tal vez a que la actividad de la UDP-glucuronosiltransferasa disminuye, mientras que la beta-glucuronidasa hepática aumenta su actividad; asimismo, hay un incremento en la salida de bilirrubina biliar (Van Steenberg *et al*, 1989). Anteriormente hemos demostrado que no hay incremento en la bilirrubina biliar en los animales que reciben la dieta litogénica (Cárdenas *et al*, 1986) y la T₃ tampoco parece producir una bilis más icterica; sin embargo, podría existir algún cambio en las proporciones de bilirrubina no conjugada, mono y diconjugada.

Por otra parte, la alteración en la proporción de sales biliares podrían ser las responsables de la formación de los cálculos; por ejemplo, un aumento de las sales biliares menos solubles, tales como las dihidroxiladas conjugadas con glicina, las cuales están presentes en una proporción importante en este tipo de cálculos biliares. En este sentido, Pauletsky (1989) encontró una disminución de la síntesis de ácido cólico, sin alteración en la síntesis de ácido quenodesoxicólico en pacientes hipertiroideos, debida probablemente a la inhibición de la 12 alfa hidroxilasa por la hormona tiroidea. Si en el jámster ocurriese este fenómeno, se esperaría un aumento del ácido quenodesoxicólico (dihidroxilado), el cual podría facilitar (potencializar) la formación de cálculos biliares por la Vitamina A. Por tanto, se requiere estudiar en el futuro el efecto de la Vitamina A y la T₃ sobre el tipo de sales biliares secretadas.

Otra función de las sales biliares es la de ligar iones de calcio, para evitar la precipitación de carbonato de calcio en la bilis hepática cuando se encuentra supersaturada con éste. Cuando alguna otra molécula genera flujo biliar, pero no liga iones cálcicos, o la capacidad de las sales biliares para

unirse a los iones se ve mermada, se precipitan sales insolubles de calcio en el árbol biliar (Hofmann, 1988). Este podría ser uno de los mecanismos por el cual la Vitamina A produce cálculos pigmentarios, ya que ésta provoca un aumento del flujo biliar, pero no de sales biliares. Entonces, sería de esperarse que la T₃ en lugar de potencializar la colelitiasis, la previniera, ya que aunque aumenta el flujo biliar eleva significativamente la concentración de sales biliares de los animales que reciben T₃ y Vitamina A, al compararlos con los que sólo reciben Vitamina A. Ya que éste no es el caso, queda aún por delucidar algún otro mecanismo através del cual esta hormona potencializa la litogenicidad de la Vitamina A.

Por otro lado, la T₃ pudiera potencializar la colelitiasis producida por la Vitamina A a través del aumento significativo de las reservas hepáticas de Vitamina A, como se demostró en este trabajo. En estudios anteriores hemos señalado que la frecuencia de la colelitiasis depende del nivel hepático de Vitamina A alcanzado (Cadena, 1989; Cárdenas *et al*, 1985); sin embargo, el incremento de Vitamina A hepática producido por la T₃ podría no ser suficiente para explicar la magnitud de la potencialización.

Otro de los efectos de la T₃ sobre el metabolismo de la Vitamina A que pudiera estar relacionado con la potencialización, es el hecho de que en el hipertiroidismo hay un incremento en la utilización de la Vitamina A (Nutr. Rev., 1979; Arai *et al*, 1991). Posiblemente un mayor reciclaje de Vitamina A por el organismo hipertiroidico pudiese explicar la potencialización de la colelitiasis. El incremento en la utilización de la Vitamina A en animales hipertiroidicos se asocia con una reducción de las reservas hepáticas de la vitamina (Nutr. Rev., 1979, Arai *et al*, 1991). En nuestro trabajo, en el cual se observó lo contrario, es probable que la T₃ provocara una mayor utilización de la vitamina, pero que debido al tiempo que se mantuvieron los animales hipertiroidicos (70 días), el organismo compensara teniendo un mayor almacenamiento de Vitamina A.

Independientemente del papel que juegue la T₃ adicionada en la dieta, se debe señalar que en la colelitiasis pigmentaria producida por la Vitamina A en jamstercos eutiroidicos, la presencia de niveles normales de T₃ puede ser necesaria para que ocurra la acción litogénica de la vitamina. Lo anterior puede demostrarse determinado el efecto de la tiroidectomía y de agentes antitiroideos sobre la colelitiasis.

Un hallazgo inicial del presente trabajo es el efecto colerético producido por la Vitamina A, el cual parece ser producido por el aumento del flujo independiente de sales biliares. El mecanismo por el cual ocurre esta coleresis podría ser similar al producido por la T_3 , en el cual hay un incremento de la Na^+K^+ ATPasa canalicular (Layden & Boyer, 1976). Este hallazgo, aunado a la evidencia de que el ácido retinoico unido al receptor del mismo (RAR) interactúa con el segmento del DNA que responde a triiodotironina (TRE), sugiere la posibilidad de que la Vitamina A también estimule la síntesis de Na^+K^+ ATPasa. Por otra parte, también es probable que el efecto colerético se deba a la reducción de la fluidez de la membrana del hepatocito provocada por la Vitamina A (Cho-Il *et al.*, 1988).

Durante el hipertiroidismo en humanos es común encontrar un descenso en los niveles séricos de colesterol, el mecanismo de este fenómeno es aún desconocido; sin embargo los resultados aquí reportados indican un ascenso del colesterol plasmático de los jámsteres alimentados con T_3 , lo cual concuerda con los hallazgos de Bergman y Van der Linden (1964), e indican una diferencia entre estas especies en el efecto de la T_3 sobre el metabolismo de este lípido, el cual merece ser investigado.

Respecto a la falta de litogenicidad de la T_3 *per se*, podemos mencionar que estudios anteriores empleando dietas semipurificadas mostraron que la *d*- y *l*-tiroxina (T_4) producen cálculos pigmentarios en el jámster dorado (Bergman & Van der Linden, 1964). La falta de litogenicidad de la T_3 el presente estudio, usando una dieta no litogénica semipurificada puede deberse al nivel dietético ensayado o al tipo de dieta con la que se suministró. El uso de distintas dietas de mantenimiento afecta la litogenicidad de la Vitamina A (Galicia, 1991).

La frecuencia de la colelitiasis producida por la Vitamina A, usando dietas de mantenimiento, se ha visto en algunas ocasiones bastante reducida. Estas diferencias posiblemente son debidas a la en composición y calidad de los diferentes lotes de la dieta empleada. Esta variabilidad puede ser aún más importante cuando se emplea la T_3 .

La similitud entre los receptores nucleares de ambas sustancias, la existencia de RARs que en presencia de ácido retinoico son capaces de activar genes que contienen TREs, y la regulación sinérgica de la expresión genética de la hormona del crecimiento que realizan la hormona tiroidea y el ácido retinoico unidos a sus respectivos receptores nucleares (Lazar &

Chin, 1990; Nutr. Rew. Num.10, 1989; Nutr. Rew. Num. 12, 1989), nos llevan a pensar que la T₃, adicionada a una dieta de mantenimiento adecuada, pudiera exhibir una acción litogénica por un mecanismo de acción similar al de la Vitamina A.

Conclusiones.

1.-La T₃ a niveles de 100 y 40 mcg% en la dieta, potencializa notablemente la colelitiasis pigmentaria producida por la Vitamina A en el jámster dorado; sin embargo, no es litogénica *per se* al nivel de 40 mcg%.

2.-La Vitamina A administrada en una dieta de mantenimiento tiene un efecto colerético en el jámster. Asimismo, reduce las concentraciones de lípidos biliares, tales como el colesterol, los fosfolípidos y las sales biliares.

3.-La T₃ produce una coleresis significativamente mayor que la Vitamina A. Sin embargo, no altera la concentración de colesterol ni de sales biliares, e incrementa la de los fosfolípidos.

4.-Los efectos coleréticos de la T₃ y de la Vitamina A son aditivos al suministrarlas simultáneamente.

5.-La T₃ tiende a contrarrestar la disminución en las concentraciones de lípidos biliares causada por la Vitamina A sola.

6.-La T₃ produce un aumento ligero, pero significativo, de las reservas hepáticas de Vitamina A suministrada durante 70, días a nivel de 40 mcg% en la dieta, tanto en animales controles como en aquellos que recibieron la dieta litogénica. Sin embargo, la concentración de Vitamina A en el hígado es menor en los animales alimentados con T₃.

7.-La T₃ eleva los niveles de colesterol sérico en el jámster, mientras que la Vitamina A no afecta los niveles sanguíneos de este lípido.

Tercera Parte.

3.0 Resumen general y Bibliografía.

3.1 Resumen General

El presente trabajo reporta dos experimentos realizados con el fin de determinar el efecto de la triiodotironina (T₃) sobre la coleditiasis pigmentaria producida por la Vitamina A, y sobre la composición de lípidos biliares en el jámster dorado. El estudio consta de las siguientes partes:

3.1.1 Primera parte.

En ésta se realiza una revisión actualizada acerca de la coleditiasis en general, con énfasis en la coleditiasis pigmentaria humana, y en especial del jámster. Asimismo, contiene una revisión acerca de la química, origen, metabolismo y funciones de las hormonas tiroideas, de su relación con la coleditiasis pigmentaria del jámster y con la Vitamina A.

3.1.2 Segunda Parte.

Se refiere a la sección experimental, que consta de Objetivos, Metodología, Resultados, Discusión y Conclusiones de los 2 experimentos realizados. En ambos experimentos se emplearon jámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) machos de la cepa ChCM. Como dieta básica (DB) se utilizaron Nutricubos Purina para Roedores Pequeños pulverizados, la cual adicionada de 25 000 UI% constituyó la dieta litogénica (DL). La duración de cada experimento fue de 70 días.

Primer experimento: 60 jámsteres fueron divididos en tres grupos y alimentados con las siguientes dietas durante el período experimental: Grupo 1, DB; Grupo 2, DL; Grupo 3, DL + 100 mcg% T₃. Al final del experimento, los animales fueron sangrados por punción cardíaca, sacrificados y necropsiados, colectándose la bilis vesicular y el hígado.

Segundo experimento: 80 jámsteres fueron divididos en cuatro grupos, cuyas dietas fueron: Grupo I, DB; Grupo II, DL; Grupo III, DL + 40 mcg% de T₃; Grupo IV, DB + 40 mcg% de T₃. Al final del experimento, se canuló el colédoco de los animales, se sangraron por punción cardíaca, habiéndose sacrificado y necropsiado inmediatamente después.

Los resultados del primer experimento mostraron que el nivel de 100 mcg% de T₃ potencializó en un 75% la coleditiasis producida por la Vitamina A ($P < 0.001$); este nivel de T₃ produjo signos de toxicidad, tales como

hidrotorax y cardiohepatomegalia, así como muerte de 14 animales (14%) antes de finalizar los 70 días experimentales. La Vitamina A *per se* (Grupo 2) produjo una reducción significativa del colesterol biliar, pero no afectó los niveles de colesterol en el suero. La T₃ suministrada junto con la Vitamina A (Grupo 3) produjo, al compararla con la Vitamina A sola (Grupo 2), una mayor acumulación de Vitamina A por el hígado en los 6 animales que sobrevivieron hasta el final del período experimental.

Respecto al colesterol, la T₃ atenuó el efecto reductor de la Vitamina A sobre el colesterol biliar ($P < 0.001$), y elevó la concentración de este lípido en el suero ($P < 0.001$).

Los resultados del segundo experimento mostraron que la T₃ potencializa en un 70% la colelitiasis producida por la Vitamina A ($P < 0.001$). La Vitamina A sola (Grupo II) produjo un marcado incremento del flujo biliar, el cual fue acompañado de una disminución significativa de las concentraciones de colesterol, sales biliares y fosfolípidos de la bilis ($P < 0.001$). La T₃ sola (Grupo IV) produjo también una marcada coleresis, pero no redujo las concentraciones de los lípidos biliares, debido a que provocó un aumento significativo de la secreción hepática de éstos. El efecto colerético de la T₃ y la Vitamina A fue aditivo al suministrarlas juntas (Grupo III) y las concentraciones biliares de lípidos tendieron a normalizarse, ligeramente con el colesterol, moderadamente con las sales biliares y completamente con los fosfolípidos. Al igual que en el primer experimento, la T₃ produjo un aumento ligero, pero significativo, de las reservas hepáticas de Vitamina A. Aunque el nivel de 40mcg% de T₃ no afectó el crecimiento, sí provocó cardiohepatomegalia.

Las conclusiones de este trabajo fueron: 1) La T₃ a niveles de 100 y 40 mcg% en la dieta potencializa la colelitiasis producida por la Vitamina A y no es litogénica *per se* a nivel de 40 mcg%. 2) La Vitamina A tiene un efecto colerético en el jámster, y reduce las concentraciones de los lípidos biliares. 3) La T₃ produce una coleresis significativamente mayor que la Vitamina A. Sin embargo, no altera la concentración de colesterol, ni de sales biliares, e incrementa la de fosfolípidos. 4) Los efectos coleréticos de la T₃ y de la Vitamina A son aditivos al suministrarlas juntas. 5) La T₃ tiende a contrarrestar la disminución en las concentraciones de lípidos biliares causada por la Vitamina A sola. 6) La T₃ produce un aumento de las reservas hepáticas de Vitamina A. 7) La T₃ eleva los niveles de colesterol

sérico en el jámster, mientras que la Vitamina A no afecta los niveles sanguíneos de este lípido.

3.2 Bibliografía.

- Abel, L.L.; Levi, B.B.; Brody, B.B. *et al.* 1952. A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *J. Biol. Chem.* 195:357-366.
- Akiyoshi, T.; Nakayama, F. 1990. Bile acid composition in brown pigment stones. *Dig. Dis. Sci.* 35 (1):27-32.
- Arai, M.; Taushima, T.; Izoaki, O.; Shirume, K.; Emoto, N.; Demura, H.; Miyakawa, M.; Onoda, N. 1991. Effects of retinoids on iodine metabolism, thyroid peroxidase gene expression, and deoxyribonucleic acid synthesis in porcine thyroid cells in culture. *Endocrinol.* 129 (6):2827-2833.
- Barlett, O.R. 1959. Phosphorous assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 234:466-468.
- Bodo, G.; Santisteban, P.; Aranda, A. 1989. Retinoic acid regulates growth gene expression. *Nature (London)* 339:231-234.
- Bergman, F.; Van der Linden, W. 1964. Influence of D-Thyroxine on gallstone formation in hamsters. *Acta. Chir. Scand.* 129:547-552.
- Bergman, F.; Van der Linden, W. 1966. Further studies on the influence of Thyroxine on gallstone formation in hamsters. *Acta. Chir. Scand.* 131:319-328.
- Berk, Z. 1980. *Introducción a la química de los alimentos*, Cap. 15. Oxidación de lípidos. ED. El manual moderno, México, D.F.
- Blake, C.; Cutley, S.J. 1977. Protein-Dna and protein-hormone interactions in prealbumin: a model of the thyroid hormone nuclear receptor? *Nature*, 268:115-120.
- Burnside, J.; Darling, D.S.; Chin, W.W. 1990. A nuclear factor that enhances binding of thyroid hormone receptors to thyroid hormone response elements. *J. Biol. Chem.* 265:2500-2504.
- Cadena, A. 1989. *Estudios sobre las posibles alteraciones producidas por la Vitamina A que inducen colelitiasis pigmentaria del hámster dorado (*Mesocricetus auratus*)*, Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, U.N.A.M.
- Cárdenas, R.; Castillo, A.R.; Granados, H. 1979. Cálculos biliares en el hámster dorado. XXII. Acción potencializadora de la zanahoria en la colelitiasis pigmentaria producida por la Vitamina A. XII Congr. Nat. Gastroenterol, México. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 44:256 Resumen.
- Cárdenas, R.; Zamora, F.; Granados, H. 1984. Cálculos biliares en el hámster dorado. XXIX. Valores hematológicos en animales con cálculos pigmentarios producidos por la Vitamina A. XVIII Congr. Nat. Gastroenterol. Guadalajara, Jal. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 45 (4):319 Resumen.
- Cárdenas, R.; Cadena, A.M.; Soriano, M.; Granados, H. 1985. Cálculos biliares en el hámster dorado. XXXI. Relación entre la prevención de la colelitiasis pigmentaria por el Polifal KA-02 y los niveles hepático y plasmático de Vitamina A. XIX Cong. Nat. Gastroenterol. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 50 (4):362. Resumen.
- Cárdenas, R.; Méndez, N.; Cadena, A.; Granados, H. 1986. Bilirrubina, Calcio y pff biliares en hámsteres con colelitiasis pigmentaria. XX Congr. Nat. Gastroenterol. Morelia, Mich. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 51:299 Resumen.
- Cárdenas, R.; García, F.; Jaime, M.E.; Granados, H. 1989. Cálculos biliares en el hámster dorado (*M. a. auratus*) XXXV. Efecto de la hidrogenación del Polifal KA-02 sobre su acción preventiva de la colelitiasis pigmentaria. *Arch. Invest. Biol. (Méx.)* 20:343-348.
- Cárdenas, R.; Jaime, M.E.; Guzmán, J.; Granados, H. 1989. Cálculos biliares en el hámster dorado. XXXVI. Acción litogénica del ácido retinoico. XXIII Congr. Nat. Gastroenterol. México. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 54 (4):322 Resumen.
- Cárdenas, R.; Galicia, M.; Jaime, M.E.; Granados, H. 1990. Cálculos biliares en el hámster dorado XXXIX. Prevención por el Hidroxitolueno Butilado de la colelitiasis pigmentaria producida por la Vitamina A. XXIV Congr. Nat. Gastroenterol. Méx. *Rev. Gastroenterol.* 55 (4):341 Resumen.

- Cohen, B.I.; Setoguchi, T.; Mosbach, E.H.; Mc Sherry, C.K.; Stenger, R.J.; Kuroki, S.; Soloway, R.D. 1964. An animal model of pigment cholelithiasis. *Am. J. Surg.* 153: 130-138.
- Cho, H.K.; Leo, M.A.; Lowe, N.; Lebr, Ch. 1988. Effects of Vitamin A and Ethanol on liver plasma membrane fluidity. *Hepatology*, 8 (4):735-741.
- Christensen, F.; Prange, J.; Dam, H. 1964. Alimentary production of gallstones in hamster. 13. Influence of highly unsaturated fats and certain minerals in gallstone production. *Z. Ernährungsweis.* 4:186-192.
- Crowther, R.; Soloway, R. 1990. Pigment gallstone disease: Summary of the National Institutes of Health-International Workshop. *Hepatology*, 2 (6):879-884.
- Dam, H.; Christensen, F. 1952. Alimentary production of gallstones in Hamsters I. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 30:236-241.
- Dam, H.; Christensen, F. 1952. Alimentary production of gallstones in Hamsters II. *Acta Physiol. Scand.* 27:315-320
- Dam, H.; Christensen, F. 1961. Alimentary production of gallstones in hamster. 8. Influence of dietary fat. *Z. Ernährungsweis.* 2:34-41.
- Dam, H.; Christensen, F. 1961. Alimentary production of gallstones in hamster. 9. Influence of different carbohydrate sources on gallstone formation, diarrhea and growth. *Z. Ernährungsweis.* 2:91-102.
- Dam, H.; Christensen, F. 1962. Alimentary production of gallstones in Hamsters. 10. The effect of orally ingested bile acids on the development of cholesterol gallstones in hamsters fed a fat-free diet with glucose as carbohydrate component. *Z. Ernährungsweis.* 2:154-159.
- Dam, H.; Christensen, F. 1965. Alimentary production of gallstones in hamster. 15. Production of gallstones under varied hormonal conditions. *Z. Ernährungsweis.* 6:149-160.
- Dam, H.; Prange, J.; Sondergaard, E. 1968. Alimentary production of gallstones in hamster. 20. Influence of dietary cholesterol on gallstone formation. *Z. Ernährungsweis.* 9:43-48.
- Dam, H. 1969. Nutritional aspects of gallstone formation with particular reference to alimentary production of gallstones in laboratory animals. *World Rev. of Nut. and Dietetics.* 11:199-239.
- Danielsson, H.; Sjoval, J. 1975. Bile acid metabolism. *Ann. Rev. Biochem.* 44:233-253.
- Di Stefano III, J.; Feng, D. 1988. Comparative aspects of the distribution, metabolism and excretion of six iodothyronines in the rat. *Endocrinol.* 123 (5):2514-2525.
- Dooner, H.P.; Pavada, J.; Aliaga, C.; Hoyt, C. 1967. The liver in thyrotoxicosis. *Arch. Intern. Med.* 120:25-32.
- Edmonds, C.J. 1987. Peripheral metabolism of Thyroxine. *J. Endocrinol.* 114:337-339.
- Estada, E.; Soriano, M.; Cárdenas, R.; Grandos, H. 1976. Cálculos biliares en el hámster dorado. XII. Comparación de la acción litogénica de la mantquilla de leche de vaca con la de 6 aceites vegetales. X. Congr. Nal. Gastroenterol. México D.F. Resúmenes. T-2.
- Fernández, C.; Palacio, A.; Coca-Martín, C.; Colina, F. 1982. Hepatopatía en la hiperfunción tiroidea. *Gastroenterol. Hepatol.* 5 (9):481-488.
- García, M.A. 1991. Estudio sobre la prevención por el *Histoxitobucro butilato* de la coliditiasis pigmentaria producida por la Vitamina A en el hámster dorado (*Mesocricetus auratus auratus*). Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias U.N.A.M.
- Ganong, W.F. 1985. *Fisiología Médica*. Ed. El Manual Moderno, México. pp 418.
- García, H.; Illgueret, P.; Amolik, K. 1984. Effects of a large dose of retinal or retinoic acid on the thyroid hormones in the rat. *Ann. Nutr. Metab.* 28:92.

- Goodman, DeW. Vitamina A Metabolism. en: *The Liver Biology and Pathology* L. Arias, H. Popper, D. Schachter, D.A. Schaffner (eds). Raven Press, New York. pp 347-352.
- Granados, JI. 1971. Cálculos biliares en el jámster dorado (*Mesocricetus auratus*) alimentados con una dieta de mantenimiento. *Pocysa (La Habana)* 93:19.
- Granados, JI. 1974. Gallstones in the golden hamster. IV. The effects of supplementing a stock commercial ration with milk and carrots. XXVth. Internat. Congr. Physiol. Sci. New Delhi. *Abstracts of Voluntiers Papers*. (Vol. XI) abstracts. 285 pp New Delhi.
- Granados, JI. 1975. Gallstone in the Golden Hamster. V. The lithogenic effect of cows milk. X Internat. Cong. Nutr. Kyoto. Abstracts, p 223.
- Granados, JI; Cárdenas, R; Estrada, E; Soriano, M. 1976. Cálculos biliares en el jámster dorado. XI. Acción sinérgica de la testosterona en la coleditiasis producida por la mantequilla de leche de vaca. X Congr. Nal Gastroenterol. México Resúmenes, T-1.
- Granados, JI; Cárdenas, R; Soriano, M. 1977. Cálculos biliares en el jámster dorado. XV: Acción litogénica de la Vitamina A. XIII Congr. Latinoamer. Cien. Fisiol. y XX Congr. Nal. Cien. Fisiol. Méx. Resúmenes, p. 173.
- Granados, JI; Cárdenas, R; Soriano, M. 1977. Gallstones in the Golden Hamster XIV. Lithogenic action of lard. XXVII Congr. Internat. Sci. Physiol. Paris. *Resúmenes de Comunic.* Vol. XIII, p.279. Resúmenes 816.
- Granados, JI. 1978. Gallstones in the golden hamster. XVI. Prevention of pigment cholelithiasis by DRENOHEPAR. VI World Congress of Gastroenterol. Madrid. p.155 Abstracts.
- Granados, JI; Cárdenas, R. 1978. Gallstones in the golden hamster. XXII. Prevention of pigment cholelithiasis by certain components of DRENOHEPAR. VI World Congress of Gastroenterol. Madrid. p. 155 Abstracts.
- Granados, JI; Cárdenas, R. 1978. Prevention by dehydrocholic acid of pigment gallstones in the golden hamster. Internat. Assoc. Study Liver Meeting. Fuengirola Magala. p.47 Abstracts.
- Granados, JI; Cárdenas, R. 1979. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXI. Acción potencializadora de la zanahoria en la coleditiasis pigmentaria producida por la mantequilla. XII Congr. Latinoamer. Patol. Sto Domingo. *Patología, (México)* 17:174 Resúmenes.
- Granados, JI. 1980. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXV. Coleditiasis producida por la sacarosa, glucosa y fructosa. V Congr. Latinoamer. Nutr. Cholula Pue. resumen 46.
- Granados, JI; Cárdenas, R. 1980. Prevention by Dehydrocholic acid of the pigment cholelithiasis produced by Vitamina A in the golden Hamster. *Fed. Proc.* 39 (3) Abstract 96.
- Granados, JI; Soriano, M. 1980. Prevención de la coleditiasis pigmentaria por el POLIFAT KA-02 en el jámster dorado. XIV Congr. Nal. Gastroenterol. México. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 45:327 Resúmenes.
- Granados, JI; Soriano, M. 1981. Gallstones in the golden Hamster. XXVI. Prevention of pigment cholelithiasis by POLIFAT KA-02. XI Triena World Congr. Pathol. Jerusalem. p.108. Abstracts.
- Granados, JI; Cárdenas, R. 1983. Gallstones in the golden hamster. XXIV. Prevention by means of dehydrocholic acid of pigment cholelithiasis produced by butter and Vitamin A. *Arch. Invest. Med. México* 14:23.
- Granados, JI; Zamora, F; Soriano, M. 1983. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXVIII. Efecto de la ovariectomía en la coleditiasis producida por la glucosa y Vitamina A. XVII Congr. Nal. Gastroenterol. México *Rev. Gastroenterol. Méx.* 48:267 Resúmenes.
- Granados, JI; Cárdenas, R; Rodríguez, A. 1987. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXXII. Acción preventiva de Gobernadora (*Larrea tridentata*) en la coleditiasis pigmentaria producida por la Vitamina A. Reun. Internat. Conmemor. 43 Aniv. Hosp. Centr. Milit. México. *Rev. Sanid. Milit. Méx.* 41:264.
- Granados, JI; Cárdenas, R. 1987. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXXIII. Acción preventiva del azul de metileno en la coleditiasis pigmentaria producida por la Vitamina A. XXI Congr. Nal. Gastroenterol. México. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 52 (4):304. Resúmenes.

- Granados, H.; Cárdenas, R.; Soriano, M.; Villa, J. 1988. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXXIV. Acción preventiva del ajo (*Allium sativum*) en la coledolitias pigmentaria producida por la Vitamina A. XXII Congr. Nat. Gastroenterol. Puebla, Pue. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 53 (4):373 Resúmen.
- Granados, H.; Cárdenas, R. 1989. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXXVII. Ausencia de acción preventiva en dos antioxidantes artificiales. XXIII Congr. Nat. Gastroenterol. México. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 54 (4):322 Resúmen.
- Greenberger, N.J.; Milligan, F.D.; De Groot, L.J.; et al. 1964. Jaundice and thyrotoxicosis in the absence of congestive heart failure. *Am. J. Med.* 36:840-846.
- Guyton, A. 1989. *Tratado de Fisiología Médica*, Ed. Interamericana. México, pp 888-899.
- Haynes, R.; Muray, F. 1986. Drogas tiroideas y anti-tiroideas. en: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, Ed. Panamericana. México, pp 1319-1339.
- Hofmann, A. 1988. Bile, bile acids, and gallstones: Will new knowledge bring new power? *Ann* 151:5-12.
- Ingbar, S.; Woeber, K. 1974. The thyroid gland. en: *Textbook of Endocrinology*, R. Williams (ed) pp 95-232.
- Itoh, S.; Yamaba, Y.; Gohara, S.; Oda, T.; Marutani, K.; Kameda, C. 1987. Changes in liver calcium in relation to serum triiodotironine (T3), thyroxine (T4) and T3/T4 ratio in rats treated with CCl4. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 58 (3):417-420.
- Jaime, M.E.; Cárdenas, R.; Granados, H. 1989. Cálculos biliares en el jámster dorado (*Mesocricetus auratus auratus*). XXXVIII. Comparación de la acción preventiva del Polifit KA-02 con la de otros derivados de aceites vegetales. XXIII Congr. Nat. Gastroenterol. *Rev. Gastroenterol. Méx.* 54 (4):321. Resúmen.
- Johnson, B.; Marsh, J.; King, B.; Lilleboj, H.; Scanes, C. 1991. Effect of T3 on the expression of T cell markers and immune function in thyroidectomized White Leghorn chickens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 199 (1):104-113.
- Klions, F.M.; Segal, R.; Schaffner, F. 1971. The effect of altered thyroid function on the ultrastructure of human liver. *Ann. Jour. Med.* 50:317-324.
- Kusky, R. 1973. *Handbook of Vitamins and hormones*, Van Nostrand Reinhold Co. New York, pp 173-179.
- Lagarriga, J. 1978. *Litiasis Biliar*, Ed. Diana, México, pp 23.
- Layden, T.; Boyer, J. 1976. The effect of thyroid hormone on bile salt-independent bile flow and Na⁺ K⁺-ATPase activity in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi. *J. Clin. Invest.* 57:1009-1018.
- Lazar, M.; Chin, W. 1990. Nuclear Thyroid Hormone Receptors. *J. Clin. Invest.* 86:1777-1782.
- Marsh, J.; Johnson, B.; Lilleboj, H.; Scanes, C. 1991. Effect of T4 and chicken Growth Hormone on immune function in autoimmune thyroiditis (Obese) strain chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 199 (1):114-122.
- Mendel, C.; Weisger, R. 1990. Thyroxine uptake by perfused rat liver. *J. Clin. Invest.* 86:1840-1847.
- Méndez, N.; Uribe, M.; Jesurum, J.; Cervera, E.; Bosques, F. 1990. Características de la litiasis biliar en México. *Rev. Invest. Clin. (Méx.)* supl.42:48-52.
- Murray, M.B.; Towle, H.C. 1989. Identification of nuclear factors that enhance binding of the thyroid hormone receptor to a thyroid hormone response element. *Mol. Endocrinol.* 3:1434-1442.
- Nutrition Reviews, 1979. Vitamin A and the Thyroid. 37 (3):90-91.
- Nutrition Reviews, 1988. Effects of thyroid hormone on lipogenesis and glucose flux. 46 (10):356-358
- Nutrition Reviews, 1989. Retinoic Acid and thyroid hormone regulas: gene expression through a common gene element. 47 (10):332-334.

- Nutrition Reviews.** 1989. Regulation of growth hormone gene expression by retinoic acid. *47* (12):374-375.
- Olivares,A. 1991.
- Olson, Ja. 1979. A simple dual assay for Vitamin A and carotenoids in human liver. *Nut. Rep. Internat.* 19:807-813.
- Ong, D. 1885. Vitamin A Binding Proteins. *Nut. Rep.* 43 (8):225-232.
- Ostrow, D.J. 1984. The etiology of pigment gallstones. *Hepatology.* 4 (5): 1155-1225.
- Pauletzky,J; Stellard,F; Paumgartner,G 1989. Bile acid metabolism in human hyperthyroidism. *Hepatology.* 9 (6):852-855.
- Rodgers,A; Spector,M. 1981. Human Stones. *Endocrinol. New Series* 5 (3) Pergamon Press Great Britain. pp 119-126.
- Rozman,K; Gorski,J.D; Dutton,D; Parkinson,A. 1987. Effects of Vitamin A and/or thyroidectomy on liver microsomal enzymes and their induction in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-treated rats. *Toxicology.* 46:107-117.
- Shaffer,J.M. 1940. Diseases of the liver in Hyperthyroidism. *Arch. Pathol.* 29:20-30.
- Sherlock,S. 1981. Diseases of the liver and biliary system. Chapter 29. 6th ed. Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford.476-498.
- Siegel (ed.). 1985. *The Hamster. Reproduction and Behavior.* Plenum Press New York. pp 365.
- Stoekler,W.W; Samaha, F.J; De Groot, L.J. 1968. Coupled oxidative phosphorylation in muscle of thyrotoxic patients. *Amer. J. Med.* 44:900.
- Strichartz,S; Abedin,M; Abdou,S; Roslyn,J. 1988. Increased biliary calcium in cholesterol gallstone formation. *Am. Jour. Surg.* 155:31-137
- Strichartz,S; Abedin,M; Safarian,E; Roslyn,J. 1989. Pigment gallstone formation and altered ion transport. *Am. J. Surg.* 157:163-167.
- Suzuky,N. 1965. On black pigment of gallstones with special reference to comparison to bilirubin derivatives. *J. Exp. Med.* 85:396-409.
- Talukdar,C.K; Debidar,R; Kulpati,D; Sinch Varma,N.P; Vaishnav,H. 1975. Liver in thyrotoxicosis. *J. Indian Med. Ass.* 65:37-40.
- Tata,J.R. 1967. Membrane phospholipid synthesis and the action of hormones. *Nature. (London)* 213:266.
- Turley; Dietsch. 1978. *L. Lipid Res.* 19:924.
- Turner,C.D; Bagnara,J.T. 1976. *General Endocrinology.* W.B.Saunders Co. U.S.A. pp 187-189.
- Trotman,B; Soloway,R. 1982. Pigment gallstone pathogenesis: From man to molecules. *Sem. Liver Dis.* 10 (3):171-180.
- Umesono,K; Giguere,V; Glass,C.K; Rosenfeld M.G; Evans,R.M. 1988. Retinoic acid and thyroid hormone induce gene expression through a common responsive element. *Nature (London)* 336:262-265.
- Van Soestbergen,W; Fevery,J; De Vos,R; Leyten,R; Heirwegh,K; De Groot,J. 1989. Thyroid hormones and the hepatic handling of bilirubin. I.Effects of hypothyroidism on the hepatic transport of bilirubin mono and di conjugates in the Wistar rat. *Hepatology.* 9 (2):314-321.
- Vaslon,G; Gold,J.D; Petkovich,M; Chambon,P; Gudas,L.J. 1989. A retinoic acid responsive element is present in the 5' flanking region of the lamina D1 gene. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 86:9099-9103.

Wilcox,H; Frank,R; Heimberg,M. 1991. Effects of thyroid status and fasting on hepatic metabolism of apolipoprotein A-I. *Jour. Lip. Res.* 32:395-405

Williams,J. 1988. Mecanismos de la secreción, acción y respuestas hormonales. En: Greenspan,F; Forhan,P. *Endocrinología Básica y Clínica*, Ed. El Manual Moderno. México. pp 1-19.

Yamashita,N; Yanagisawa,J; Nakayama,F. 1988. Composition of intrabepatic calculi. Ebiological significance. *Dig. Disease Sci.* 33 (4):449-453.