

EFFECTO DE LA HIPERVITAMINOSIS A AGUDA SOBRE LAS CONCENTRACIONES SERICAS DE Na, K, Mg, Fe, Zn y Cu EN RATAS

O. M. Alarcón,¹ J. L. Burguera² y M. Burguera²

Universidad de Los Andes
Mérida, Venezuela

RESUMEN

Se estudió, en ratas, el efecto de la hipervitaminosis A aguda sobre el contenido sérico de los elementos sodio, potasio, magnesio, hierro, zinc y cobre. Los resultados se compararon con los obtenidos en animales control o no tratados con vitamina A. En los animales tratados se observó un incremento significativo en el contenido sérico de magnesio, cobre y potasio, y una disminución también significativa, del sodio, hierro y zinc.

Se comentan los hallazgos resultantes, sugiriéndose posibles explicaciones para los mismos. Se concluye que la hipervitaminosis A aguda, directa o indirectamente determina notorias alteraciones en el contenido sérico de los cationes evaluados.

INTRODUCCION

Se han descrito estrechas interrelaciones entre la vitamina A y ciertos cationes, y viceversa. Así, tenemos que el zinc es necesario para el metabolismo de la vitamina A (1), señalándose que se requieren cantidades adecuadas del mismo para mantener normales las concentraciones plasmáticas de la vitamina (2, 3) y de su proteína transportadora (4). Esta interacción es tan evidente que, en la actualidad, el zinc se considera esencial para el mecanismo de acción de la vitamina A (5). También se ha detectado cierta relación entre el hierro y la vitamina A (6) sugerente de que esta última regula la liberación de dicho catión a nivel hepático (7). Inclusive, se ha observado que el ingreso de cantidades elevadas de hierro en la dieta

Manuscrito modificado recibido: 16-1-87.

- 1 Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- 2 Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Apartado Postal 542, Mérida 5101-A, Venezuela.

se acompaña por una disminución de los depósitos hepáticos de la vitamina (7). Por otro lado, la administración de vitamina A a dosis elevadas determina variaciones significativas en el contenido sérico de calcio y fósforo (8-10), así como en el contenido hepático de sodio, potasio, magnesio (11) y fósforo (12) de diversas especies animales. Estos antecedentes motivaron la presente investigación, en la que se valoró el contenido de sodio, potasio, magnesio, hierro, zinc y cobre en la sangre de ratas blancas macho tratadas con dosis elevadas de vitamina A, y se comparó con lo que sucede en ratas normales, no tratadas.

MATERIAL Y METODOS

Diseño Experimental

Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, con una edad de dos meses y con pesos que oscilaban entre 160 y 180 g mantenidas en jaulas metabólicas individuales. Se les suministró como alimento, Ratarina Protinal^R suplementada con vitaminas y minerales (13), agua de bebida *ad libitum*, distribuidas en los grupos que se describen a continuación:

Grupo I — Hipervitaminosis A Aguda — Este fue integrado por 30 animales, a los que se les inyectó diariamente 1 ml de vitamina A Merk (palmitato de retinol hidrosoluble: 1 ml = 100,000 UI) V.I.M. por espacio de siete días (dosis total: 700,000 UI por rata). La dosis de vitamina fue similar a la utilizada por Misra (14), Modis *et al.* (15) y por Vorhees (16), y sustancialmente inferior a la de Love y Vickers (17).

Grupo II — Control — El grupo control estuvo constituido igualmente por 30 animales, los que fueron alimentados de acuerdo con las normas establecidas. Se les inyectó, V.I.M., 1 ml de agua destilada diariamente y por igual espacio de tiempo. No se les inyectó palmitato, pues se ha demostrado que este compuesto no tiene ninguna influencia particular sobre el efecto inducido por las dosis elevadas de vitamina A (18).

Durante todo el período experimental, los animales recibieron el mismo tipo de alimentación y tuvieron libre acceso al agua de bebida. Las ratas se pesaron y examinaron diariamente en busca de manifestaciones patológicas, recolectándose muestras de orina para el reconocimiento de proteínas y de sangre (19). A las 24 horas de inyectada la última dosis de vitamina A o de agua, respectivamente, los ejemplares se anestesiaron con éter etílico, en campana de vidrio, como paso previo a la obtención de las muestras de sangre empleadas para la determinación de los siguientes cationes: sodio, potasio, magnesio, zinc, hierro y cobre por la técnica de inyección en flujo continuo — espectroscopía de absorción atómica (20-23). Posteriormente se decapitaron mediante una guillotina Harvard, y se desangraron durante 3 min. Se les practicó laparatomía mediana, tomándose trozos de hígado a fin de determinar el contenido tisular de vitamina A.

Para el estudio al microscopio óptico se tomaron fragmentos de riñón de 0.5 - 1.0 g aproximadamente, los cuales se fijaron durante 24 hr en formol al 10⁰/o (v/v) y en formol-calcio (24). Las muestras fueron deshidra-

tadas con etanol a concentraciones crecientes, aclaradas con cloroformo, incluidas en parafina, y cortadas con un micrótomo rotatorio a un espesor de siete micrómetros. Para el estudio histológico las secciones de tejido se colorearon con hematoxilina-eosina (25). La vitamina A se valoró en el tejido hepático según el método de Neeld y Pearson (26), expresándose los resultados en μg por g de tejido húmedo.

En cuanto al análisis estadístico, se calcularon los promedios, las desviaciones y los errores tipo. Se determinó, asimismo, la significancia estadística de las diferencias entre las medias, mediante la prueba "t" de Student.

RESULTADOS

Los animales tratados con vitamina A (Grupo I) acusaron manifestaciones patológicas muy similares a las descritas previamente (9-11, 27, 28), siendo las más interesantes: el edema palpebral bilateral con secreción mucopurulenta, los signos de enfermedad general, la presencia de hemorragias a nivel de los conductos auditivos externos y la marcada disminución del volumen urinario (Tabla 1) al séptimo día de tratamiento. En las muestras de orina de estos animales se detectó una ostensible proteinuria y hematuria en comparación con los controles correspondientes.

El estudio histológico efectuado en los animales del Grupo I, demostró como hechos más constantes: degeneración del epitelio tubular proximal y distal, necrosis tubular, y presencia en la luz tubular (túbulos colectores) de masas multinucleadas, de forma, aspecto y tamaño variables, que aparecen unidas a las células adyacentes o bien libres en la luz, obstruyéndola total o parcialmente de una manera similar a lo descrito previamente por Rodahl (28).

TABLA 1

EFFECTO DE HIPERVITAMINOSIS A EN EL CONTENIDO DE DICHA VITAMINA EN HIGADO, Y SOBRE LA DIURESIS EN 24 HORAS

Parámetro	Grupo I*	Grupo II*
Vitamina A ($\mu\text{g/g}$)**	1400.00 \pm 15.38	24.23 \pm 7.98
Diuresis (ml/24 (hr))**	7.15 \pm 1.09	40.00 \pm 1.15

* Promedios \pm errores tipo de 30 determinaciones.

** Grupo I vs. Grupo II; $P < 0.05$, estadísticamente significativo.

En la Tabla 2 se muestran las concentraciones séricas de los diferentes cationes valorados, tanto en el Grupo I como en el II. Los niveles séricos de los electrolitos en el Grupo II (Control), concuerdan con los publicados previamente (29, 30). Según se observa, la administración de vitamina A produjo en los animales del Grupo I, un descenso en los niveles séricos del sodio, hierro y zinc, con un incremento concomitante en los de potasio,

TABLA 2

EFECTO DE LA HIPERVITAMINOSIS A AGUDA EN EL CONTENIDO SERICO DE CATIONES*

Catión	Unidades	Grupo I (Tratado)**	Grupo II (Control)**
Na	mEq/L	129.15 ± 1.27	155.30 ± 1.07
K	mEq/L	6.99 ± 0.08	4.84 ± 0.11
Mg	mg/dl	4.00 ± 0.07	2.90 ± 0.08
Fe	µg/dl	60.00 ± 0.39	140.90 ± 0.10
Zn	µg/dl	45.01 ± 0.08	90.00 ± 1.48
Cu	µg/dl	210.80 ± 0.06	107.00 ± 1.01

* Promedios ± errores tipo de 30 determinaciones.

** Grupo I vs Grupo II; P < 0.05, estadísticamente significativo.

magnesio y cobre. Simultáneamente se pudo comprobar un notorio incremento en el contenido hepático de vitamina A en los animales del Grupo I (Tabla 1).

DISCUSION

La hipervitaminosis A aguda, confirmada por los criterios de Regezi y Row (31) y por las hemorragias presentes (28), determinó lesiones histopatológicas renales similares a las descritas por Drigalski y Laubmann (32), Arvy (33), Rodahl (28) y Leelaprute *et al.* (34) y la notable disminución de la diuresis (oliguria) que, juntamente con la marcada proteinuria y hematuria, muy bien podrían ser la expresión clínica de dichas alteraciones. Se determinaría en consecuencia un cierto grado de disfunción renal (¿falla renal?) con las respectivas modificaciones electrolíticas: hiponatremia, hiperpotasemia e hipermagnesemia (35) como efectivamente se observó en los animales del Grupo I. Indiscutiblemente, en estos hallazgos pueden haber influido otros factores que escapan a las características de la investigación aquí comentada. Es de hacer notar que la mayoría de los trabajos consultados (36, 37) señalan valores séricos de sodio, potasio y magnesio en límites normales en animales tratados con dosis elevadas de vitamina A; sólo en una oportunidad se ha encontrado un incremento en las concentraciones del potasio (8). Quizás en nuestros resultados pudo haber influido la dosis administrada del compuesto, el tipo de vitamina y/o la vía de administración, como han señalado previamente Strebel *et al.* (10).

Se podría especular en el sentido que la hiperpotasemia, vista en nuestros animales experimentales, sería capaz de determinar las alteraciones electrocardiográficas descritas en terneras intoxicadas con vitamina A (38), y constituir una de las causas de muerte en esta situación experimental. Por su parte, la hiponatremia podría condicionar la somnolencia y la disminución de la actividad corporal (35). La hipermagnesemia, en cambio, podría influir en el sentido de deprimir la actividad del sistema

nervioso central y la muscular (39), manifestaciones ampliamente relacionadas con la hipervitaminosis A, tanto aguda como crónica (9, 28).

El proceso inflamatorio e infeccioso agudo, en los animales tratados con vitamina A, al estimular la formación del "mediador endógeno leucocitario (LEM)" (40-42) —una proteína termolábil que favorece la captación hepática de zinc y de hierro con una liberación incrementada de cobre (40)— podría explicar, en parte, nuestros hallazgos con respecto a estos cationes. Tales modificaciones, a su vez, se pueden considerar como un mecanismo de defensa frente a la infección y a la inflamación (40, 41). En el caso del hierro su disminución en sangre también depende indiscutiblemente del síndrome hemorrágico presente (28).

En conclusión, los hallazgos previamente descritos permiten sugerir que la hipervitaminosis A aguda, directa o indirectamente puede alterar el metabolismo mineral, tal como sucede en el glucídico (15, 28), el lipídico (14) y el proteínico (27). Y, al mismo tiempo, nuestros hallazgos confirman parcialmente la hipótesis de Modis *et al.* (15), quienes opinan que: ". . . la polimorfa sintomatología vista en la hipervitaminosis A está relacionada con un mecanismo de acción muy complejo que afecta a todos (o casi todos) los metabolismos intermediarios corporales. . .".

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al CDCHT de la Universidad de Los Andes por financiar la realización del presente trabajo. Igualmente agradecen la asistencia técnica del Sr. José R. Pineda L.

SUMMARY

EFFECT OF ACUTE HYPERVITAMINOSIS A ON THE SERUM CONTENT OF Na, K, Mg, Fe, Zn and Cu IN RATS

The effect of hypervitaminosis A on the content of sodium, potassium, magnesium, iron, zinc and copper in rat serum was studied. Results were compared to findings in non-treated animals. The serum content of potassium, magnesium and copper increased significantly, while the content of sodium, zinc and iron decreased significantly in the treated animals, when compared to the values obtained with untreated animals.

Possible mechanisms for these changes are discussed, and we conclude that high doses of vitamin A cause a marked change in the serum content on the measured cations.

BIBLIOGRAFIA

1. Duncan, J. R. & L. S. Hurley. An interaction between zinc and vitamin A in pregnant and fetal rats. *J. Nutr.*, **108**: 1431-1438, 1978.
2. Brown, E. D., W. Chan & J. C. Smith, Jr. Vitamin A metabolism during the repletion of zinc-deficient rats. *J. Nutr.*, **106**: 563-568, 1976.

3. Smith, J. C., Jr., E. D. Brown, E. G. Mc Daniel & W. Chan. Alterations in vitamin A metabolism during zinc deficiency and food and growth restriction. *J. Nutr.*, **106**: 569-574, 1976.
4. Smith, J. E., E. D. Brown & J. C. Smith, Jr. The effect of zinc deficiency on the metabolism of retinol-binding protein in the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, **84**: 692-697, 1974.
5. Smith, J. C., Jr., E. G. Mc Daniel, F. F. Fann & J. A. Halsted. Zinc: A trace element essential in vitamin A metabolism. *Science*, **81**: 954-955, 1973.
6. Blackfan, K. D. & S. B. Wolbach. Vitamin A deficiency in infants. *J. Pediat.*, **3**: 679-706, 1933.
7. Staab, D. B., R. E. Hodges, W. K. Metcalf & J. L. Smith. Relationship between vitamin A and iron in the liver. *J. Nutr.*, **114**: 840-844, 1984.
8. Nelson, E. C., B. A. Dehority, H. S. Teage, V. L. Sanger & W. D. Pounder. Effect of vitamin A intake on some biochemical and physiological changes in swine. *J. Nutr.*, **76**: 325-332, 1962.
9. Nieman, C. & H. J. Klein-Obbink. The biochemistry and pathology of hypervitaminosis A. *Vitamins Horm.*, **12**: 69-99, 1954.
10. Strebél, R. F., R. J. Girerd & B. M. Wagner. Cardiovascular calcification in rats with hypervitaminosis A. *Arch. Path.*, **87**: 290-297, 1969.
11. Maldonado, J. R. **Estudio del Mecanismo de Acción de las Dosis Tóxicas de Vitamina A Alcohol (Retinol) en Ratas.** Trabajo de Ascenso a Prof. Asociado, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 1974.
12. Alarcón, O. M. **Aspectos Metabólicos en Roedores Intoxicados con Vitamina A Alcohol (Retinol).** Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 1973.
13. National Research Council (Eds.). Nutrient requirements of the laboratory rats. En: **Nutrient Requirements of Laboratory Animals.** Washington, D. C., National Academy of Sciences, 1978, p. 7-37.
14. Misra, U. K. Lipid metabolism in hypervitaminosis A. *Nature*, **209**: 910-911, 1966.
15. Modis, L., A. Spreca, J. Süvege-Conti & G. Conti. Recherches histochimiques et biochimiques sur du rats en hyper- et hypovitaminose A. *Acta Anat.*, **83**: 481-504, 1972.
16. Vorhees, C. V. Some behavioral effects of maternal hypervitaminosis A in rats. *Teratology*, **10**: 269-274, 1974.
17. Love, A. M. & T. H. Vickers. Placental agenesis, embryonal hydraemia, embryolethality and acute hypervitaminosis A in rats. *Br. J. Exp. Path.*, **57**: 525-541, 1976.
18. Niazi, I. A. & S. Saxena. The influence of excess of vitamin A on the growth of frog tadpoles with particular reference to thyroid glands. *Rev. Can. Biol.*, **31**: 89-96, 1972.
19. Henry, R. J. **Clinical Chemistry. Principles and Techniques.** New York, N. Y., Hoeber Medical Division, Harper & Row, 1964, p. 245 and 779.
20. Burguera, J. L., M. Burguera, M. Gallignani & O. M. Alarcón. More on flow injection/atomic absorption analysis of electrolytes. *Clin. Chem.*, **29**: 569-570, 1983.
21. Burguera, J. L., M. Burguera & M. Gallignani. Direct determination of sodium and potassium in blood serum by flow injection and atomic absorption spectrometry. *An. Acad. Bras. Cien.*, **55**: 209-213, 1983.
22. Rocks, B. F., R. A. Sherwood, L. M. Bayford & C. Riley. Zinc and copper determination in microsamples of serum by flow injection and atomic absorption

- spectroscopy. *Ann. Clin. Biochem.*, **19**: 338-343, 1982.
23. Rocks, B. F., R. A. Sherwood, Z. J. Turner & C. Riley. Serum iron and total iron-binding capacity determination by flow injection analysis with atomic absorption detection. *Ann. Clin. Biochem.*, **20**: 72-76, 1983.
 24. Pearse, A.G.E. *Histochemistry. Theoretical and Applied*. 3rd. ed. Vol. 1. London, Churchill, p. 698-699.
 25. Barka, T. & P. J. Anderson. *Histochemistry. Theory. Practice and Bibliography*. Hoeber Medical Division. New York, N. Y., Harper & Row, 1963, p. 80-81.
 26. Neeld, J. B. & W. N. Pearson. Macro- and micromethods for the determination of serum vitamin A using trifluoroacetic acid. *J. Nutr.*, **79**: 454-462, 1963.
 27. Alarcón, O. M., M. E. Jonckheer, D. S. de Molina, J. L. Burguera, M. Burguera, J. A. Burguera & L. D. González P. Modificaciones del metabolismo proteico en la hipervitaminosis A aguda, en ratas. *Acta Cient. Venez.*, **37**: 162-169, 1986.
 28. Rodahl, K. Hypervitaminosis A in the rat. *J. Nutr.*, **41**: 399-421, 1950.
 29. Altman, P. L. & D. S. Dittmer (Eds.). *Blood and Other Body Fluids*. Washington, D. C., Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961, p. 53.
 30. Long, C. (Ed.). *Biochemist's Handbook*. Princeton, Van Nostrand, 1961, p. 831-832.
 31. Regezi, J. A. & N. H. Rowe. Morphologic effects of hypervitaminosis A on rat submandibular gland. *Rach. Oral. Biol.*, **17**: 1609-1618, 1972.
 32. Drigalski, W. & W. Laubman. Uber Schädigung durch vitamin A. *Klin. Wschr.*, **12**: 1171-1174, 1933.
 33. Arvy, L. Le rein et les vitamines A. *Laval Med.*, **39**: 142-172, 1968.
 34. Leelaprute, V., V. Boonpucknaug, N. Bhamaraparavati & W. Weerapradist. Hypervitaminosis A in rats. *Arch. Path.*, **96**: 5-9, 1973.
 35. Villarreal, H. *Riñón y Electrolitos*. F. Méndez Otero (Ed.). México, D. F., Librería de Medicina, 1959, p. 37-55.
 36. Maddock, C. L., S. B. Wolbach & S. Maddock. Hypervitaminosis A in the dog. *J. Nutr.*, **39**: 117-139, 1949.
 37. Di Beneddeto, R. L. Chronic hypervitaminosis A in adult. *J.A.M.A.*, **201**: 700-702, 1967.
 38. Nielsen, W., R. M. Grey & J. J. Lucas. Chronic hypervitaminosis A in Holstein male calves. *J. Dairy Sci.*, **47**: 391-401, 1964.
 39. Pleschiteer, A. Biological role of magnesium. *Clin. Chem.*, **4**: 429-451, 1958.
 40. Beisel, R. W. Trace elements in infectious processes. *Med. Clin. N. Am.*, **60**: 831-848, 1976.
 41. Pekarek, R. S. & W. R. Beisel. Characterization of the endogenous mediator(s) of serum zinc and iron depression during infection and other stresses. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **138**: 728-732, 1971.
 42. Pekarek, R. S., M. C. Powanda & W. Wannemacher. The effect of leukocytic endogenous mediator (LEM) on serum copper and ceruloplasmin concentration in the rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **141**: 1029-1031, 1972.