

B453

e 1

VARIACION ESTACIONAL EN LA TASA  
DE ABSORCION INTESTINAL DE LIOLAEMUS NITIDUS (IGUANIDAE):  
POSIBLE EFECTO DE LA HORMONA TIROXINA

Tesis

Entregada a la

Universidad de Chile

En cumplimiento parcial de los requisitos

Para optar al grado de

Magister en Ciencias Biológicas

Con Mención en Zoología

Facultad de Ciencias

por

Marcial Ernesto Beltrami Boisset

Diciembre, 1990



Patrocinante: Dr. Sergio Iturri Duque

Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile

INFORME DE APROBACION  
TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el candidato

**Marcial Ernesto Beltrami Boisset**

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito de tesis para el grado de Magister en Ciencias Biológicas.

Patrocinante de Tesis.

Dr. Sergio Iturri D.



Comisión Informante de Tesis.

Dra. Rosa Deves.



Dr. Mario Penna.



Dr. Alberto Veloso.



A Beatriz y a mis hijas  
Carolina, Paulina y Claudia.



## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer al Dr. Sergio Iturri Duque, tutor de esta tesis, por su constante apoyo, dedicación y orientación brindada. A los Drs. Alberto Veloso, Rosa Deves y Mario Penna, cuyo aporte ha permitido enriquecer este trabajo.

Además a través de estas líneas quiero agradecer a las siguientes personas: Prof. Alejandro Peña; Prof. Gricelda Ruiz; Sr. Ramón Soto; Prof. Sergio Zapata; Prof. Pedro Urzúa; Prof. Ximena Espinosa; Prof. Sergio Sanhueza; Sr. Enrique Hernández; Srta. Ana Valenzuela; Dr. Luis Contreras y Colaboradores: Srta. Ximena Romero; Prof. Mauricio Sagredo; Sr. Waldo Piñats y Sr. Luis Loyola por su desinteresada colaboración.

Hago extensiva a la vez este agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra participaron en las distintas fases de este trabajo.



## INDICE DE MATERIAS

---

	Pág.
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT	ix
INTRODUCCION	1
HIPOTESIS DE TRABAJO	10
OBJETIVOS	10
MATERIALES Y METODOS	12
a) Captura y mantención en cautiverio de la especie en estudio.	12
b) Determinación de absorción intestinal in vitro.	13
c) Protocolo experimental.	16
d) Determinación de tiroxina.	18
e) Efecto de neurotransmisores sobre absorción intestinal in vitro.	19
f) Análisis estadístico.	19
RESULTADOS	20
I Comparación estacional de la absorción intestinal en <i>L. nitidus</i> .	20
- Absorción intestinal de L-Tirosina	20
- Absorción intestinal de D-Glucosa	21
II Efecto de la hormona tiroxina en la absorción intestinal.	31

Estación de verano	
- Absorción intestinal de L-Tirosina	31
- Absorción intestinal de D-Glucosa	32
Estación de invierno	
- Absorción intestinal de L-Tirosina	37
- Absorción intestinal de D-Glucosa	42
III Niveles estacionales de tiroxina en <i>Liolaemus nitidus</i>	54
IV Efecto de neurotransmisores en la absorción intestinal.	54
<b>DISCUSION</b>	58
- Metodología utilizada	58
- Comparación estacional de la absorción intestinal	59
- Efecto de la hormona tiroxina en la absorción intestinal	63
- Niveles estacionales de tiroxina en <i>Liolaemus nitidus</i>	65
- Efecto de neurotransmisores en la absorción intestinal	66
- Proyecciones de esta línea de investigación	68
<b>CONCLUSIONES</b>	71
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	73

LISTA DE TABLAS  
-----

		Pág.
Tabla 1.	Absorción intestinal total de L-Tirosina	29
Tabla 2.	Absorción intestinal total de D-Glucosa	30
Tabla 3.	Absorción intestinal total de L-Tirosina (Verano)	36
Tabla 4.	Absorción intestinal total de D-Glucosa (Verano)	41
Tabla 5.	Absorción intestinal total de L-Tirosina (Invierno)	46
Tabla 6.	Absorción intestinal total de D-Glucosa (Invierno)	51
Tabla 7.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal total de L-Tirosina	52
Tabla 8.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal total de D-Glucosa	53
Tabla 9.	Efecto de acetilcolina y noradrenalina sobre la absorción intestinal total de L-Tirosina	56
Tabla 10.	Efecto de acetilcolina y noradrenalina sobre la absorción intestinal total de D-Glucosa	57

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Montaje experimental trans- porte activo	14
Figura 2. Absorción intestinal L-Tirosina 2 mM (Verano e Invierno)	23
Figura 3. Absorción intestinal L-Tirosina 3.5 mM (Verano e Invierno)	24
Figura 4. Absorción intestinal L-Tirosina 5 mM (Verano e Invierno)	25
Figura 5. Absorción intestinal D-Glucosa 10 mM (Verano e Invierno)	26
Figura 6. Absorción intestinal D-Glucosa 20 mM (Verano e Invierno)	27
Figura 7. Absorción intestinal D-Glucosa 40 mM (Verano e Invierno)	28
Figura 8. Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal L-Tirosina 2 mM (Verano)	33
Figura 9. Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal L-Tirosina 3.5mM (Verano)	34
Figura 10. Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal L-Tirosina 5 mM (Verano)	35
Figura 11. Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal D-Glucosa 10 mM (Verano)	38

Figura 12.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal D-Glucosa 20 mM (Verano)	39
Figura 13.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal D-Glucosa 40 mM (Verano)	40
Figura 14.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal L-Tirosina 2 mM (Invierno)	43
Figura 15.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal L-Tirosina 3.5mM (Invierno)	44
Figura 16.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal L-Tirosina 5 mM (Invierno)	45
Figura 17.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal D-Glucosa 10 mM (Invierno)	48
Figura 18.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal D-Glucosa 20 mM (Invierno)	49
Figura 19.	Efecto de T4 y PTU sobre la absorción intestinal D-Glucosa 40 mM (Invierno)	50

## RESUMEN

-----

*Liolaemus nitidus* es una especie de amplia distribución geográfica (Coquimbo a Maule), ubicándose preferentemente sobre rocas entre los 500 a 2300 metros sobre el nivel del mar. Sus hábitos alimentarios son principalmente insectívoros, con una tendencia a la herbivoría en adultos.

La temperatura preferencial (en laboratorio) y la de actividad (en terreno) registrada a nivel cloacal para la especie corresponde a 35°C. Estos ejemplares presentan diferencias conductuales estacionales, siendo su actividad mayor en el periodo primavera-verano. Durante el invierno, tienen un estado de dormancia (reposo), permaneciendo refugiados bajo piedras, grietas o raíces de la vegetación del lugar. Solo algunos ejemplares, en forma esporádica salen de sus refugios y buscan alimento si las condiciones térmicas son favorables.

Hay algunos antecedentes que permiten relacionar un aumento en la actividad tiroidea de los ejemplares con el periodo reproductivo, durante los meses de primavera y verano.

En esta tesis se postula la existencia de diferencias estacionales en la absorción intestinal de *L. nitidus*, como consecuencia de los cambios de niveles de tiroxina. Además se estudia el efecto de neurotransmisores, que modifican la motilidad intestinal, sobre la absorción intestinal de hidratos de carbono y aminoácidos in vitro.

Grupos de ejemplares normales (0.1 ml S.F.L.), tiro-  
privos químicamente (Propiltiouracilo: 0.02 mg/0.1 ml i.p.) y  
normales inyectados con tiroxina (T4) exógena (0.04 ug/0.1  
ml), durante 14 días, para las estaciones de invierno y vera-  
no, fueron sacrificados por decapitación. Sacos evertidos de  
intestinos fueron incubados a 35°C en un baño con solución  
fisiológica conteniendo D-Glucosa (10, 20 y 40 mM) y L-Tirosi-  
na (2, 3.5 y 5 mM). El transporte de estos compuestos se  
midió por periodos de 30 minutos, durante 2 horas de incuba-  
ción.

Los niveles estacionales de tiroxina (T4) se deter-  
minaron por radioinmunoanálisis. Durante el periodo estival,  
para determinar la influencia de neurotransmisores en la ab-  
sorción intestinal, se agregó a la solución fisiológica ace-  
tilcolina ( $10^{-5}$  y  $10^{-7}$  M) y noradrenalina ( $10^{-5}$  y  $10^{-7}$  M). Los  
resultados muestran que los ejemplares colectados en la esta-  
ción de verano, tienen una mayor capacidad de absorción intes-  
tinal que la presentada por animales de la estación de invier-  
no, lo cual está asociado a cambios estacionales de la hormona  
T4, en la especie.

El tratamiento con dosis exógenas de T4, produce un  
aumento del transporte intestinal, con tendencia a mayor res-  
puesta para L-Tirosina, durante la estación de invierno. La  
absorción intestinal de D-Glucosa, aumenta para las concentra-  
ciones 20 y 40 mM, en las dos estaciones comparadas. Los

ejemplares tiroprivos presentan una disminución en la absorción intestinal comparados con el grupo control.

La absorción intestinal disminuye en preparaciones de intestino con la presencia de neurotransmisores, excepto cuando la concentración de nor-adrenalina es  $10^{-7}$  M, siendo el transporte de D-Glucosa mayor en relación al grupo control.

## ABSTRACT

-----

*Liolaemus nitidus* is a species of wide geographical distribution (Coquimbo to Maule). It is found preferentially of rocks between 500 to 2300 m above the sea level. Its trophic habits are mainly insectivorous with a tendency to herbivory in adults.

The preferential temperature in the lab and in the field is equal to 35°C. registered into the cloaca. Individuals show behavioral seasonal differences being more active during the spring-summer period. During winter, they remain in a state of dormancy (rest) under rocks, holes or roots of the surrounding vegetation. Only few individuals may go out from their refuges in search for food if the thermal conditions are advantageous. There are a few lab records that relate an increase in thyroid activity with the reproductive season showing a greater activity in these period (spring-summer).

In this work the existence of seasonal differences in the rate of intestinal absorption as a result of changes in thyroxine levels is postulated. In addition, the effect of neurotransmitters which modify intestinal motility on intestinal absorption of sugars and aminoacids are studied.

groups of intact animals (0.1 ml L.P.S.),  
chemically thyroprivies (P.T.U. 0.02 mg/0.1 ml i.p.) and  
intacts injected with T4 exogenous (0.04 µg/0.1 ml i.p.)  
during 14 days. were killed by decapitation. Everted sacs of  
small intestine were incubated at 35°C in a bath with a  
physiological solution (P.S.) containing D-glucose (10, 20,  
40 mM) and L-thyroxine (2, 3.5, 5 mM). The transport of these  
compounds was measured for 30 minutes periods during 2 hours.

The seasonal thyroxine levels was determined by  
radioimmunoanalysis. Acetylcholine ( $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$  M) and  
noradrenaline ( $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$  M) were added to the P.S. to  
determine the influence of neurotransmitters on intestinal  
absorption.

The results show an increase in the intestinal  
absorption capacity of lizards collected during the summer  
period compared to those captured during winter. There is a  
relationship between the seasonal thyroxine levels and the  
intestinal absorption capacity. Exogenous dosis of T4 produce  
an increase of intestinal absorption. Thyroid deprived  
lizards show an increase in intestinal absorption capacity  
compared with those from the control group.

Intestinal absorption decreases in everted sac  
preparations when neurotransmitters are present.

## INTRODUCCION

-----

*Liolaemus nitidus* (Wiegmann, 1835) presenta una distribución geográfica extensa (30 a 37° Latitud Sur), ubicándose de preferencia en zonas rocosas de las cordilleras de la Costa y de los Andes, entre los 500 a 2300 metros sobre el nivel del mar (Donoso-Barros, 1966; Jaksic y Fuentes, 1980; Veloso, A y Navarro, J., 1988).

De acuerdo a Donoso-Barros (1966), esta especie presenta dos hábitat principales: matorral semicoxtero (Norte Chico, 20 msnm) y matorral cordillerano (Zona central, 1500 a 2300 msnm), siendo definida como una especie saxícola (Donoso-Barros, 1966; Jaksic y Fuentes, 1980), ubicándose sobre rocas grandes o cercanamente a *Puya chilensis* en el Norte Chico o a vegetación achaparrada en la zona cordillerana (Jaksic y Fuentes, 1980).

Sus hábitos alimentarios son principalmente insectívoros (Jaksic y Fuentes, 1980), siendo importantes, cuantitativamente, los siguientes taxa: Coleóptera (37% de abundancia de adultos, 4.5% de larvas), Hymenóptera (21.8%), Homóptera (15.4%) y Nemátoda (13.5%). Además estos autores reportaron para *Liolaemus nitidus* el consumo de componentes vegetales, el que varía cuantitativamente dependiendo del tamaño corporal de los lagartos. Los ejemplares de mayor tamaño presentan una mayor tendencia a la herbivoría, en cambio los juveniles consumen casi exclusivamente componentes animales.

Pough (1973) clasificó a los lagartos de acuerdo a su rango alimentario como: carnívoros, omnívoros primariamente carnívoros, omnívoros primariamente herbívoros o herbívoros. Los lagartos insectívoros obtendrían más del doble de energía por gramo de alimento que los lagartos herbívoros; existiría un tamaño en el cual un lagarto mantiene sus hábitos carnívoros de acuerdo a sus requerimientos energéticos y al costo de captura de la presa. Para los lagartos de mayor tamaño, la alimentación con vegetales, energéticamente sería más favorable (menor costo de captura).

Fuentes y Di Castri (1975) al estudiar 35 especies de *Liolaemus*, determinaron que la tendencia a la herbivoría se da en tamaños de lagartos menores a los señalados por Pough (1973). Estos autores postulan una influencia de la oferta de presas, las que al ser pobres o fluctuantes, en determinadas épocas del año, influirían en el cambio de hábitos alimentarios hacia la herbivoría. La tendencia a la omnivoría sería frecuente en ambientes de altura (Donoso-Barros, 1966; Fuentes y Di Castri, 1975) o en regiones relativamente secas (Ortiz, 1975; Ortiz y Riveros, 1976; Fuentes, 1977; Jaksic y Fuentes, 1978).

Los cambios de hábitos alimentarios en lagartos, no sólo dependerían de ventajas energéticas, sino también de la predictibilidad del ambiente en cuanto a oferta de presa (Jaksic, 1979).

Los lagartos son organismos ectotérmicos que requieren para alimentarse de una determinada temperatura corporal que les permita activarse, capturar su presa y realizar los procesos fisiológicos de la digestión y absorción intestinal; necesitan de una temperatura corporal que no fluctúe demasiado, de manera que sea óptima para estos procesos (Dawson, 1975; Huey, 1982). Estudios realizados (Cowles y Bogert, 1944; Bogert, 1949; Heath, 1964; Brattstrom, 1965) han demostrado que los lagartos alcanzan temperaturas corporales elevadas y pueden mantenerlas dentro de límites estrechos en su ambiente natural y en el laboratorio, si se les proporciona un gradiente fototérmico (Valencia, 1975; Jaksic y Fuentes, 1979; Valencia y Jaksic, 1981). En estos estudios, los promedios de las temperaturas cloacales registradas para *Liolaemus nitidus* han sido las siguientes: 35.2°C (Valencia, 1975) y 34.8°C (Valencia y Jaksic, 1981) en gradiente fototérmico de laboratorio, 35.4°C (Jaksic, 1979) y 35°C (Valencia y Jaksic, 1981) en terreno (Norte Chico, El Teniente y Paso Marchant, respectivamente). En ninguno de estos trabajos mencionados se encontraron diferencias significativas entre la temperatura preferencial (laboratorio) y la temperatura de actividad (terreno), siendo ésta, aproximadamente de 35°C (Valencia y Jaksic, 1981). Algunos lagartos presentan diferencias estacionales en su temperatura corporal promedio en el terreno (Mc Ginnis, 1966; Maynaw y Weintraub, 1971; Pianka, 1971; Deavers, 1972). Entre las posibles explicaciones para este fenómeno, se plantea la posibilidad de aparición de ritmos cíclicos estacionales, posiblemente como consecuencia de cambios hormonales (Healwole

1976). Eggert (1936) sostiene que los cambios encontrados en la histología de la glándula tiroidea en tres especies de lagartijas se deben principalmente, a efectos de la temperatura ambiental. Voitkevitsch (1944), trabajando en tortugas, determinó que el fotoperiodo afecta a la actividad tiroidea. Diversas investigaciones han encontrado una relación entre la actividad de esta glándula y los cambios en los niveles de hormonas sexuales en los reptiles (Evans y Hegre, 1938; Saint Girons, 1963; Wilhofts, 1963; Wilhofts, 1964). Wilhofts (1958) y otros autores (Eskin et al, 1959) consideran que además, la época reproductiva de los organismos, influye en la actividad tiroidea. Según Miller (1959), el periodo reproductivo sería de gran actividad conductual (alimentación, reproducción, agresividad) produciéndose un aumento de las secreciones tiroideas. Como resultado de un incremento de la actividad hormonal y factores ambientales, en esta etapa del ciclo biológico de los reptiles, el metabolismo celular es elevado, siendo fundamental la ingesta de alimento y su posterior asimilación orgánica para la sobrevivencia de los individuos.

Investigaciones realizadas por Eggert (1936) y Kobayashi y Gorbman (1959), determinaron que dosis exógenas de tiroxina (T<sub>4</sub>) en lagartos dan como resultado el aumento del consumo de oxígeno y un aumento en la tasa de fijación de yodo en diversos tejidos. Por otra parte, Evans y Clapp (1939) y Evans (1959) determinaron que dosis exógenas de tiroxina producen marcados efectos conductuales (aumento de la conducta territorial y actividad general) en *Anolis carolinensis*. Ade-

más, demostraron variaciones en el consumo de oxígeno en relación a ejemplares tiroprivos, cuyas diferencias eran mayores a la segunda semana de administración diaria de la hormona.

Hay evidencias de que esta hormona produce un aumento de la tasa de absorción intestinal de glucosa en mamíferos (Teppermann, J., 1969; Ganong, W., 1982). No hay mayores antecedentes en reptiles que permitan evidenciar una posible relación entre la actividad gastrointestinal (transporte intestinal) y la actividad tiroidea.

Respecto a investigaciones efectuadas que se relacionen con la fisiología del aparato digestivo en reptiles, se podría mencionar que en los últimos años se ha estudiado la eficiencia digestiva de diversas especies de reptiles herbívoros tropicales (Bjorndal, 1979; Uoorcheez, 1981; Hamilton y Coe, 1982; Troyer, 1984; Christian et al., 1984) y no tropicales (Nagy, 1977; Jaksic y Schwenk, 1983; Bjorndal, 1987; Mautz y Nagy, 1987).

Karasov y Diamond (1984) determinaron tasas de transporte de nutrientes a nivel intestinal in vitro (mediciones de transporte de azúcar y aminoácidos en intestino evertido) en dos especies de lagartos. En este trabajo se compararon diversos aspectos de la fisiología digestiva de lagartos y mamíferos, encontrándose que la proporción de absorción intestinal de glucosa y prolina - que ocurre en forma activa y

sodio dependiente - era similar. Además determinaron que para ambos grupos en estudio, la cinética y tasas de absorción de nutrientes normalizados en relación a la cantidad de tejido intestinal, era semejante. La diferencia radica en que los mamíferos poseen una superficie intestinal aproximadamente seis veces mayor que reptiles de peso corporal similar, compensando de esta manera, en parte, el mayor costo metabólico de la endotermia.

Gómez et al (1986) determinaron parámetros eléctricos y transepiteliales de transporte intestinal de galactosa de *Lacerta galloti* in vitro. Basándose en los resultados obtenidos, estos autores plantean que en el duodeno de esta especie hay absorción activa de D-Galactosa, que es dependiente de Na<sup>+</sup>. Las propiedades del transporte de D-Galactosa en el intestino delgado de lagartos sería similar al descrito para otros azúcares y aminoácidos en el intestino de aves y mamíferos (Schultz & Curran, 1970; Alvarado & Mahmood, 1974; Kimmich & Randles, 1984).

Esto coincide con el modelo general de absorción intestinal de carbohidratos, en el cual se postula un transportador que se uniría a Glucosa y Na<sup>+</sup> en sitios separados. Posteriormente ocurre un cotransporte entre el ión y el azúcar debido a que el movimiento de uno induce el movimiento del otro en el mismo sentido (Sarrahm & Rega, 1977). La diferencia de potencial electroquímico para el Na<sup>+</sup> proporciona la energía necesaria para la acumulación de glucosa más allá de

la concentración presente en el lumen (Moog, 1981; Murer & Kimme, 1980). La fuente de energía para la "bomba de sodio" la constituye la hidrólisis del ATP, reacción catalizada por la enzima  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-asa (Garrahan y Rega, 1977; Rossier, 1987). Además, hay un sistema pasivo de absorción de azúcares (Kimmich, 1979; Potter y col, 1983), que es independiente de  $\text{Na}^+$  (Bolufer y col, 1982) pero que representa sólo un 5 a 9% del transporte de hidratos de carbono dependiente de este ión (Potter y col, 1982). Después de ser absorbidos, los hidratos de carbono se concentran en el interior de las células intestinales, para posteriormente salir por un proceso pasivo, independiente de  $\text{Na}^+$ , a través de la membrana basolateral (Davenport, 1974; Kimmich, 1979; Maenz & Cheeseman, 1986).

Un modelo similar se ha propuesto para explicar el transporte de aminoácidos  $\text{Na}^+$ -dependiente. Este proceso se lleva a cabo mediante los siguientes mecanismos: transporte  $\text{Na}^+$  dependiente, mediado por un sistema de "carrier" que necesita  $\text{Na}^+$  para funcionar (Lerner, 1984); Transporte  $\text{Na}^+$  independiente y difusión pasiva (Stevens y col, 1984).

*Liolaemus nitidus* presenta un período de actividad que se manifiesta entre los meses de septiembre y mayo aproximadamente, con una actividad circadiana que comienza entre las 9 y 10 A.M., dependiendo de las condiciones climáticas reinantes, alimentándose activamente especialmente durante las horas de la mañana. Además, estos ejemplares presentan un período de reposo invernal o dormancia, aproximadamente entre los

meses de junio y agosto; ubicándose en grietas, entre piedras o bajo raíces de vegetación diversa. Durante el invierno sólo algunos ejemplares salen de su refugio si las condiciones térmicas son favorables y buscan alguna presa (observaciones en terreno). Estas observaciones coinciden con lo planteado por Mautz (1984), en relación a la existencia de un período invernal de reposo en diversas especies de lagartos.

Existen diferentes variables que influyen en la dimensión del nicho trófico de los organismos entre las cuales se pueden incluir: calidad y oferta de alimento en el ambiente, variaciones temporales de los recursos alimentarios, selectividad de la dieta, tasa de ingesta de alimento, requerimientos energéticos y nutritivos, temperatura corporal, tamaño corporal, tasas de digestión de nutrientes, eficiencia digestiva y tasas de incorporación de nutrientes a través del aparato digestivo (Waldschmidt & Porter, 1986).

Dado que en vertebrados, el epitelio intestinal es fundamental para la absorción de nutrientes y que en él existen mecanismos específicos para transportar solutos, siendo el modelo propuesto muy similar para aminoácidos y azúcares. Se ha considerado importante determinar la tasa de absorción de D-Glucosa y L-Tirosina para la estación de Verano e Invierno a diferentes concentraciones de sustrato y el posible efecto de la hormona tiroxina, sobre este proceso, en ambos periodos. No se ha considerado el estudio del transporte de lípidos, dado que este proceso se lleva a cabo mediante mecanismos

fisiológicos diferentes.

Es necesario señalar que la eficiencia nutritiva no depende exclusivamente de la capacidad de transporte del epitelio intestinal, sino también de otros factores que determinan la absorción. Por esta razón, se ha estimado necesario estudiar además el efecto de neurotransmisores que producen cambios en la motilidad intestinal, tales como acetilcolina y noradrenalina (Hukuhara et al, 1960), considerando que la peristalsis es un reflejo local cuyos elementos fundamentales se pueden estudiar en segmentos aislados de intestino.

Si se agrega acetilcolina a una preparación de músculo liso de intestino in vitro, se torna más activa presentando un mayor número de contracciones rítmicas. Aparentemente ocurre un incremento en la permeabilidad para el ión sodio y entrada de ión calcio a la célula (Ganong, 1982).

## HIPOTESIS DE TRABAJO

-----

Los antecedentes proporcionados han llevado a plantear la siguiente hipótesis de trabajo:

Si los individuos de la especie estudiada presentan ritmos cíclicos estacionales que están relacionados con cambios hormonales, es posible que dichos cambios afecten la tasa de transporte intestinal, siendo ésta mayor en verano que en invierno.

## OBJETIVOS

-----

### OBJETIVO GENERAL:

-----

Estudiar el proceso de absorción intestinal de hidratos de carbono y aminoácidos en *Liolaemus nitidus* y establecer relaciones de la tasa de absorción con influencia estacional de tiroxina (T4) y probables cambios en la motilidad intestinal.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

-----

- 1.- Comparar estacionalmente las tasas de transporte intestinal de hidratos de carbono y aminoácidos en adultos de la misma localidad, normales y tiroprivos químicamente.

- 2.- Determinar niveles estacionales de tiroxina (T4) y el posible efecto que dosis exógenas de la hormona tienen en la tasa de transporte intestinal, en animales normales.
- 3.- Determinar si los neurotransmisores que producen cambios en la motilidad intestinal (acetilcolina, noradrenalina), afectan la tasa de transporte de hidratos de carbono y aminoácidos in vitro.

## MATERIALES Y METODOS

-----

### a) Captura y mantención en cautiverio de la especie en estudio:

-----

Se utilizaron lagartos adultos de ambos sexos de la especie *Liolaemus nitidus*. Los animales se colectaron en la localidad de Til-Til (50 Km al Noroeste de Stgo.), durante las estaciones de invierno y verano, mediante "huachis" o captura directa. Los ejemplares capturados tuvieron una longitud cabeza-tronco de 90 mm aproximadamente y un peso corporal promedio de 17 gramos.

Después de su captura, los lagartos fueron llevados al laboratorio y colocados en terrarios de vidrio (1 m de largo x 0.29 ancho x 0.38 alto), con 1 cm de arena como sustrato y mantenidos a una temperatura ambiente de  $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$  con una humedad relativa de 60% aproximadamente. Cada terrario tenía en uno de sus extremos una ampolleta infrarroja de 250W, que se utilizó como fuente calórica.

La temperatura ambiental se registró con un termómetro de máxima y mínima Regent ( $-50^{\circ}\text{C}$  a  $+50^{\circ}\text{C}$ ), y la humedad relativa con un higrómetro Haar-Hygrometer (0 a 100%). Ambos instrumentos se colocaron en el punto medio de cada terrario, a 1 cm sobre el sustrato. El fotoperiodo utilizado correspondió al característico de cada estación (verano: 14L-10D; invierno 10L-14D).

Los animales fueron alimentados cada 2 días, con invertebrados pertenecientes a la clase Insecta (Coleópteros, Orthópteros, Dípteros, Himenópteros y larvas de Lepidópteros). El agua se proporcionó diariamente, ad libitum, colocándola en recipientes de vidrio (2 en cada terrario). El tiempo de aclimatización de los animales fue no menos de 15 días, antes de someterlos a las condiciones experimentales siendo separados en grupos, para utilizarlos aproximadamente a los 30 días después de su captura.

b) Determinación de absorción intestinal in vitro:  
-----

Para la obtención de trozos de intestino, cada animal se sacrificó por decapitación y luego se colocó decúbito dorsal, procediendo a escindir la pared abdominal para dejar expuesto y remover el intestino delgado (3 cm de longitud como promedio en adultos). Cada trozo de intestino se lavó con 10 ml de solución fisiológica para lagarto (S.F.L.) con la siguiente composición en mM: NaCl, 107; KCl, 4.5; NaHCO<sub>3</sub>, 25; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2; CaCl<sub>2</sub>, 1.25; MgSO<sub>4</sub>, 1.0 (Gomez et al., 1986). Luego se procedió a formar sacos de intestino evertido de acuerdo a la técnica descrita por Wilson y Wiseman (1954), colocando un extremo del trozo de intestino entre los dedos pulgar e índice, para posteriormente introducir un trocar de extremo romo y empujar hasta lograr que se everta el segmento, dejando el lado mucoso hacia el exterior. Un extremo del intestino se unió a un tubo de vidrio y el otro se ligó fuertemente, formando un "saco intestinal" (Figura 1). Cada

# MONTAJE EXPERIMENTAL PARA MEDIR TRANSPORTE ACTIVO

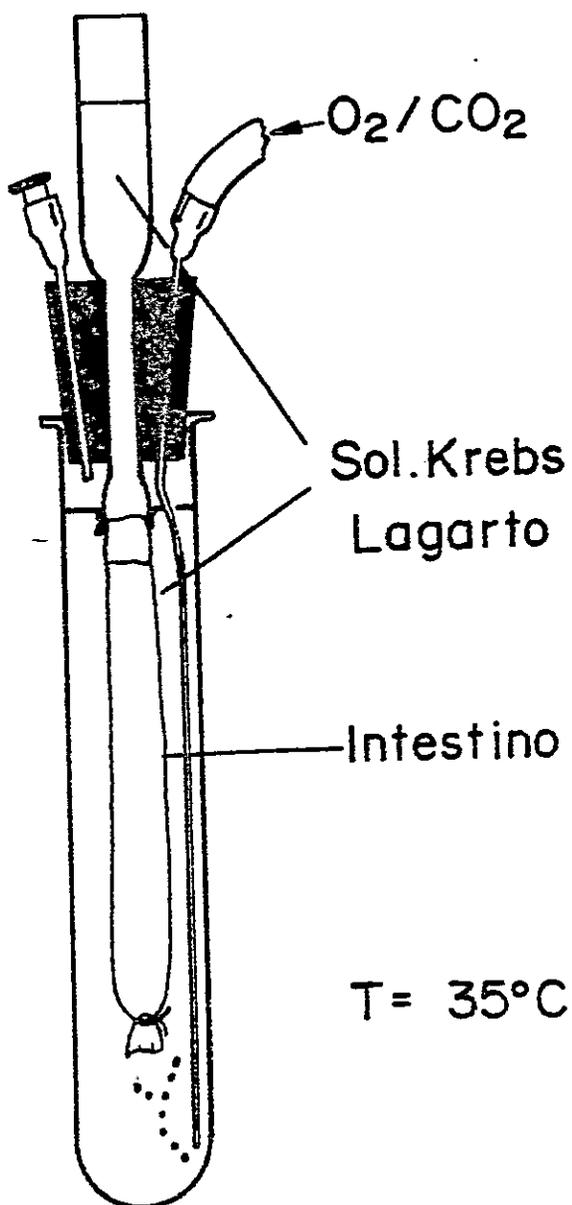


FIGURA 1

baño contenía 30 ml de solución fisiológica a la que previamente se le adicionó alguna de las siguientes concentraciones: D-Glucosa (10, 20 y 40 mM) y L-Tirosina (2, 3.5 y 5 mM). Cada uno de los sacos intestinales se llenó mediante una jeringa con 2.5 ml de la misma solución fisiológica. Durante todo el periodo experimental, el medio externo se mantuvo a pH 7, con burbujeo constante de una mezcla gaseosa de 95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub> y a una temperatura de incubación de 35°C, temperatura que corresponde a la preferencial de la especie.

Para evaluar el transporte de D-Glucosa y L-Tirosina, se midieron los cambios de concentración de estos compuestos en el interior del saco intestinal por periodos de 30 minutos durante 2 horas. La determinación de L-Tirosina se realizó obteniendo muestras en duplicado, con una micropipeta de 25 µl, por cada periodo experimental para obtener un valor promedio. La determinación de tirosina se realizó por el método de Lowry et al (1951), un método colorimétrico basado en la detección de anillos aromáticos dando coloración azul. La determinación de D-Glucosa se realizó utilizando el método de Somogy-Nelson (1954), basado en la capacidad de la glucosa de reducir iones metálicos. La determinación de glucosa se efectuó a partir de muestras, obtenidas en duplicado, utilizando una micropipeta de 100 µl. para cada periodo de incubación. La lectura se efectuó en un espectrofotómetro Bausch-Lomb, modelo Spectronic 21 de acuerdo a las longitudes de onda correspondiente a cada compuesto.

Posteriormente se midió la longitud y el ancho de cada trozo de intestino (en milímetros, precisión 1 mm) y el peso de cada uno se determinó en una balanza analítica Sartorius ( $\pm 0.001$  g). La absorción intestinal de D-Glucosa y L-Tirosina se expresaron en moles/cm<sup>2</sup>.

c) Protocolo experimental:  
-----

Para comparar la tasa de absorción intestinal "in vitro" del periodo estival e invernal y determinar el efecto de dosis exógenas de la hormona tiroxina por cada una de las estaciones mencionadas, se efectuó el siguiente diseño experimental:

ESTACION VERANO

Tratamientos experimentales	Concentraciones de Sustrato		
1.- Control + S.F. (0.1 ml)	D-Glu: 10mM	20mM	40mM
	L-Tir: 2mM	3.5mM	5mM
2.- Experimental + PTU (0.02 mg/0.1 ml)	D-Glu: 10mM	20mM	40mM
	L-Tir: 2mM	3.5mM	5mM
3.- Experimental + T4 (0.04 µg/0.1 ml)	D-Glu: 10mM	20mM	40mM
	L-Tir: 2mM	3.5mM	5mM

1.- El grupo control se utilizó para medir el transporte intestinal, del periodo estival, con los niveles de tiroxina que normalmente presentan los ejemplares en esa época del año. Después del periodo de aclimatización, los animales fueron

inyectados via intraperitoneal con 0.1 ml de Krebs-Lagarto durante 14 días.

2.- El grupo experimental con dosis exógenas de tiroxina se utilizó para determinar el transporte intestinal en ejemplares con una mayor concentración de la hormona en relación a los niveles que habitualmente presentan estos animales en verano. Después del periodo de aclimatización, se les suministró, via intraperitoneal 0.04 µg de T4 en 0.1 ml de solución Krebs-Lagarto durante 14 días.

3.- El grupo experimental con dosis exógena de Propiltiouracilo (PTU) se utilizó para determinar el transporte intestinal en animales tiroprivos químicamente (Evans, 1959). Con este objeto, después del periodo de aclimatización, a este grupo experimental se le suministró, via intraperitoneal, 1 µg/gr de peso corporal (0.02 mg de PTU) disueltos en 0.1 ml de solución Krebs-Lagarto durante 14 días.

#### ESTACION DE INVIERNO

-----

El diseño experimental efectuado, correspondió al mismo empleado durante la estación de verano, en relación a los tratamientos y concentraciones de sustrato utilizadas.

El tiempo de aclimatización de los animales fue el mismo empleado para el periodo estival. Las dosis diarias intraperitoneales cumplieron con las mismas condiciones que

las descritas para la estación de verano para cada uno de los grupos. El grupo control se utilizó para medir el transporte intestinal, con los niveles de tiroxina que, habitualmente, presentan en esta estación. El grupo con dosis exógenas de PTU, fue utilizado para determinar el transporte intestinal en ejemplares tiroprivos químicamente. Los ejemplares del grupo experimental con dosis exógenas de tiroxina, equivalentes a la concentración de la hormona durante el verano, se utilizaron para medir la absorción intestinal de ejemplares con una mayor concentración de la hormona en relación a la que habitualmente presentan en invierno.

d) Determinación de Tiroxina:  
-----

En cada estación se extrajo sangre directamente del corazón con una jeringa heparinizada a animales de captura reciente. Posteriormente se procedió a centrifugar la muestra en una centrífuga Sorvall, modelo HSE, durante 20 minutos, extrayendo el plasma con una jeringa con cánula de plástico y colocándolo en frascos de vidrio de 2 cc. de volumen, guardando la muestra en refrigeración (-20°C) para posteriormente determinar los niveles hormonales por radioinmunoanálisis (Chopra, 1972), trabajándose con un pool de muestras para cada grupo.

e) Efecto de neurotransmisores sobre absorción intestinal in vitro:  
-----  
-----

Durante el periodo estival para determinar la influencia de Acetilcolina y Noradrenalina en la tasa de absorción intestinal en preparaciones de intestino evertido, se realizó el siguiente diseño experimental:

- Control
- Experimental + Acetilcolina (10 M y 10 M)      -5      -7
- Experimental + Noradrenalina (10 M y 10 M)      -5      -7

Cada saco intestinal fue colocado en un baño de solución fisiológica con D-Glucosa (10mM) y L-Tirosina (2mM), además del neurotransmisor en las concentraciones correspondientes a cada uno de los grupos experimentales. Todos los sacos intestinales se llenaron con una jeringa con 2.5 ml. de la misma solución.

f) Análisis estadístico:  
-----

Los resultados, expresados en moles de glucosa y tirosina transportados por centímetro<sup>2</sup>, de los diferentes grupos trabajados, se analizaron estadísticamente en un computador IBM ( modelo PC XT) mediante un test de A.N.O.V.A. (Sokal & Rohlf, 1978).

## RESULTADOS

-----

### I.- Comparación estacional de la Absorción intestinal en *Liolaemus nitidus*

#### 1.- Absorción intestinal de L-Tirosina

-----

El transporte intestinal de L-Tirosina en sacos evertidos de intestino delgado de *L. nitidus*, se expresa en moles absorbidos  $\times 10^{-9}$ , por unidad de superficie ( $\text{cm}^2$ ), en función al tiempo de incubación (por periodos de 30 minutos durante 2 horas).

En la figura 2, se representa el transporte intestinal de los grupos controles del periodo invernal y estival para L-Tirosina 2 mM. Se aprecia una mayor absorción en la estación de verano ( $p < 0.05$ ), incrementándose esta diferencia en el periodo 4 de incubación.

Para L-Tirosina 3,5 mM (figura 3), se evidencia mayor absorción intestinal en 120 minutos de incubación en el grupo control de verano ( $p < 0.05$ ), siendo similar la cantidad absorbida del aminoácido en 90 minutos, en el periodo invernal y estival. Durante la primera hora de incubación, se observa mayor transporte intestinal en el grupo control de invierno ( $p < 0.05$ ).

En la figura 4, se representa el transporte intestinal para L-Tirosina 5 mM. Se evidencia una mayor absorción intestinal en la estación de verano ( $p < 0.05$ ), durante los 4 periodos de incubación; incrementándose esta diferencia en el periodo 4.

En la Tabla 1, se expresan los resultados como cantidad de L-Tirosina absorbida en 120 minutos de incubación. Es dable observar una mayor absorción intestinal en la estación de verano para las tres concentraciones de L-Tirosina utilizadas ( $p < 0.05$ ), comparadas con los valores de los animales colectados durante el invierno. Hay un incremento de 6.6 veces en la capacidad de absorción durante la estación de verano en relación a la estación de invierno para L-Tirosina 2 mM; disminuye a 1.5 veces cuando la concentración de L-Tirosina es 3.5 mM y luego aumenta a 5.5 veces cuando la concentración del aminoácido en el SFL es 5 mM.

## 2.- Absorción intestinal de D-Glucosa

-----

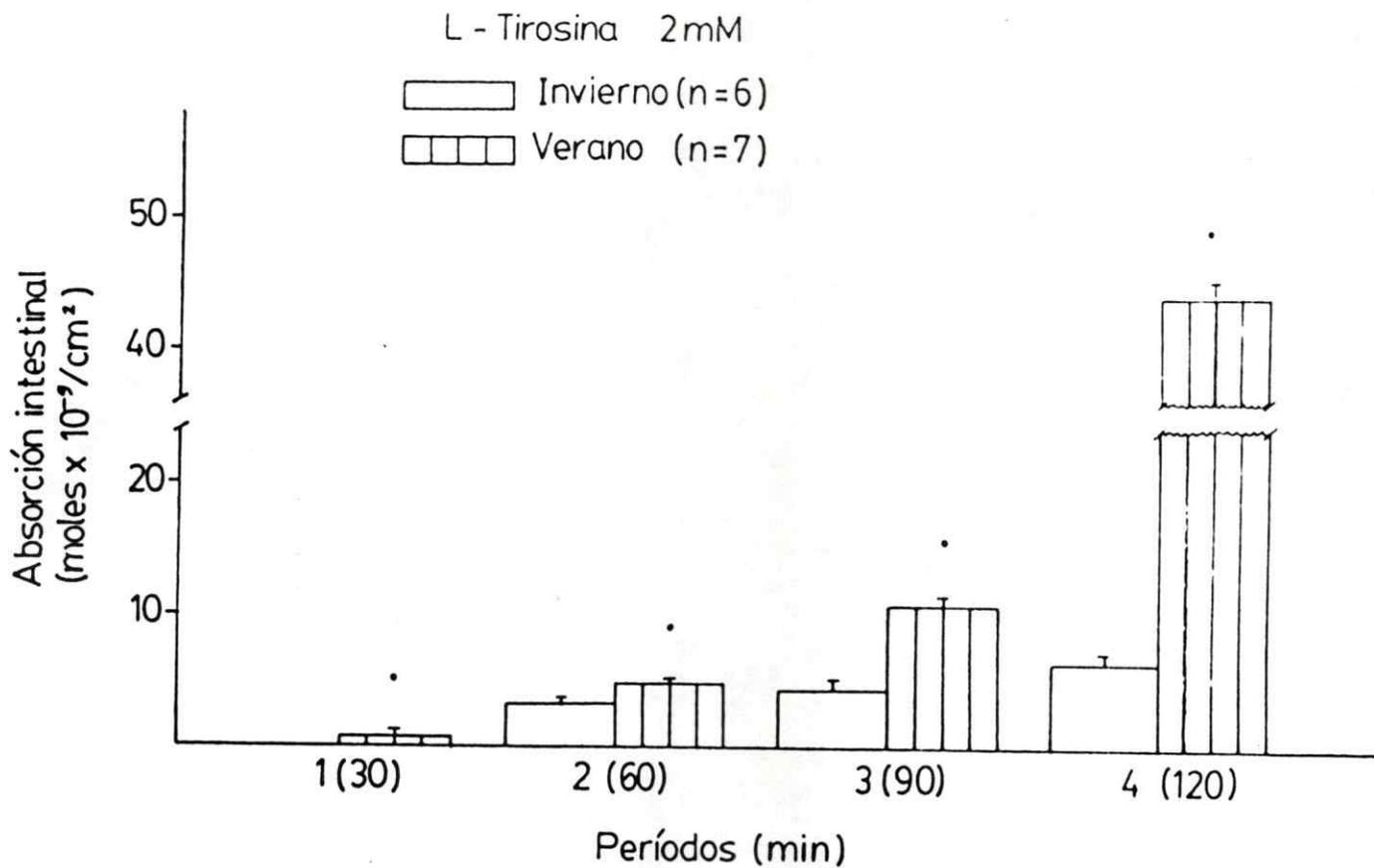
El transporte intestinal de D-Glucosa en sacos evertidos de intestino delgado de *L. nitidus*, se expresa en moles absorbidos  $\times 10^{-8}$  por unidad de superficie ( $\text{cm}^2$ ) en función del tiempo de incubación (min).

La absorción intestinal del grupo control de verano e invierno para D-Glucosa 10 mM, se representa en la figura

5. Se aprecia que durante la segunda hora de incubación, la cantidad absorbida es significativamente mayor en la estación de verano ( $p < 0.05$ ), especialmente durante el último periodo. Cuando la concentración de D-Glucosa fue 20 mM (figura 6), se observó una mayor absorción en los animales colectados durante el verano, comparados con los valores de los ejemplares del periodo de invierno ( $p < 0.05$ ), incrementándose esta diferencia en el periodo 4 de incubación.

Cuando la concentración de D-Glucosa fue 40 mM (figura 7), se observó, inicialmente, mayor incorporación del azúcar en los ejemplares del periodo de invierno ( $p < 0.05$ ), equiparándose la cantidad absorbida en ambas estaciones a partir del periodo 2 de incubación. Durante el periodo 4, se evidencia un incremento del transporte intestinal en los ejemplares capturados durante el verano ( $p < 0.05$ ).

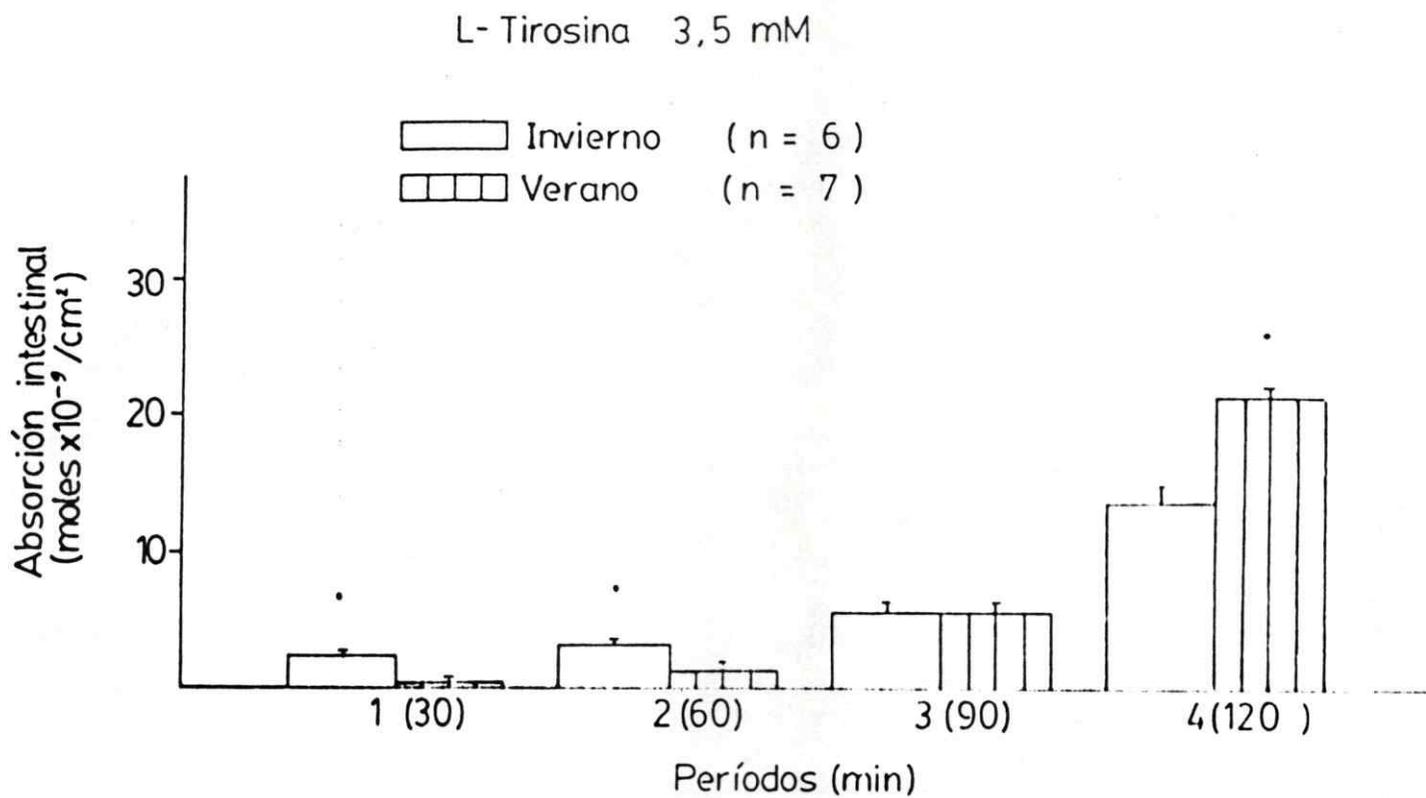
En la Tabla 2, se muestran los resultados como cantidad de D-Glucosa absorbida en 120 minutos de incubación. Es posible observar una capacidad de absorción intestinal significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en la estación de verano para las tres concentraciones de sustrato utilizadas. Estas diferencias representan un aumento de 1.6, 3.4 y de 1.6 veces en el transporte intestinal para los ejemplares colectados durante el verano comparados con los valores de los animales de la estación de invierno.



-9

FIGURA 2.- Absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}$  /cm<sup>2</sup>) de L-Tirosina (2 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de los periodos de verano e invierno.

• p < 0.05



-9

FIGURA 3. - Absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}$  /  $\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (3.5 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de los periodos de verano e invierno.

•  $p < 0.05$

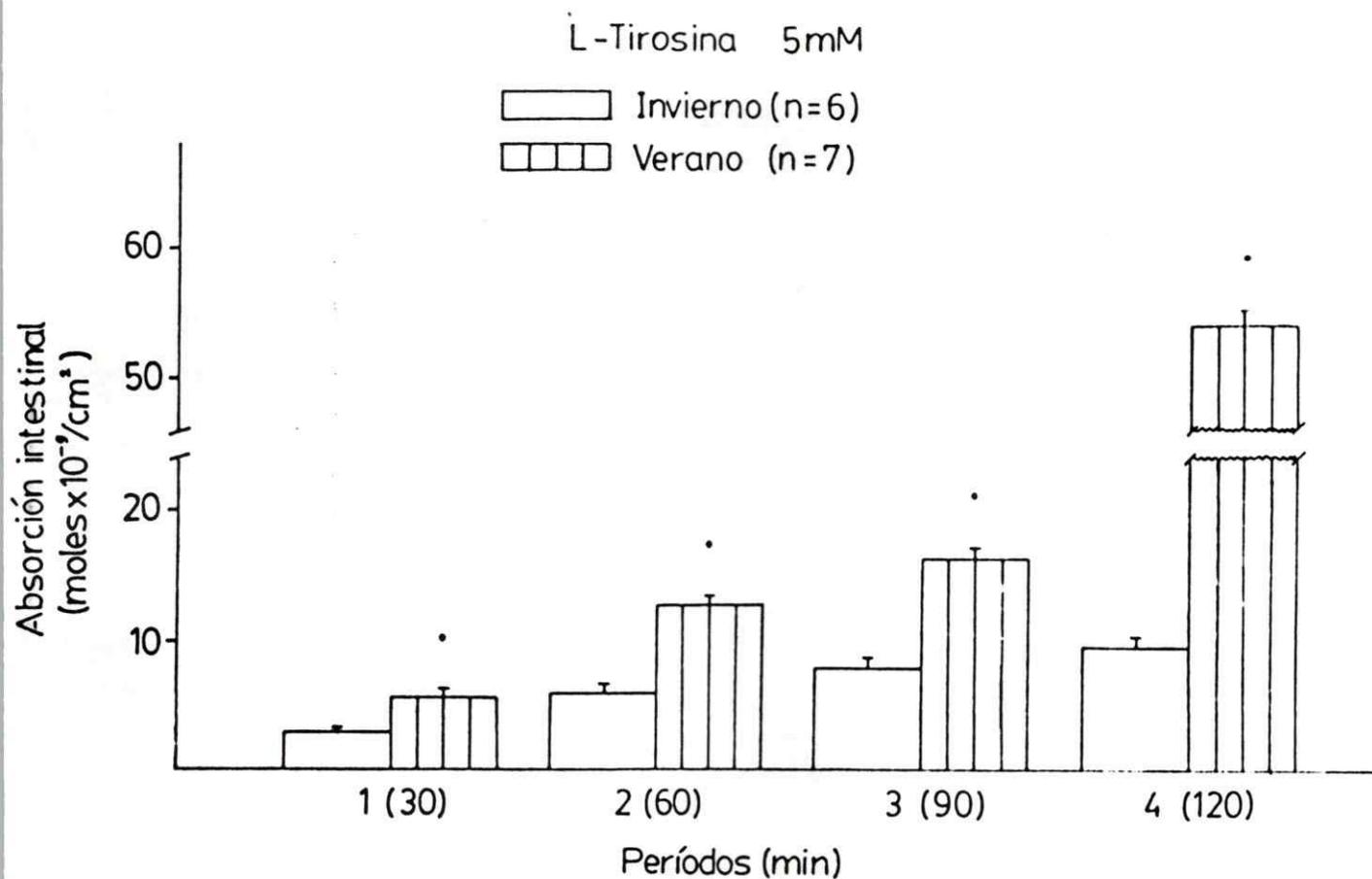
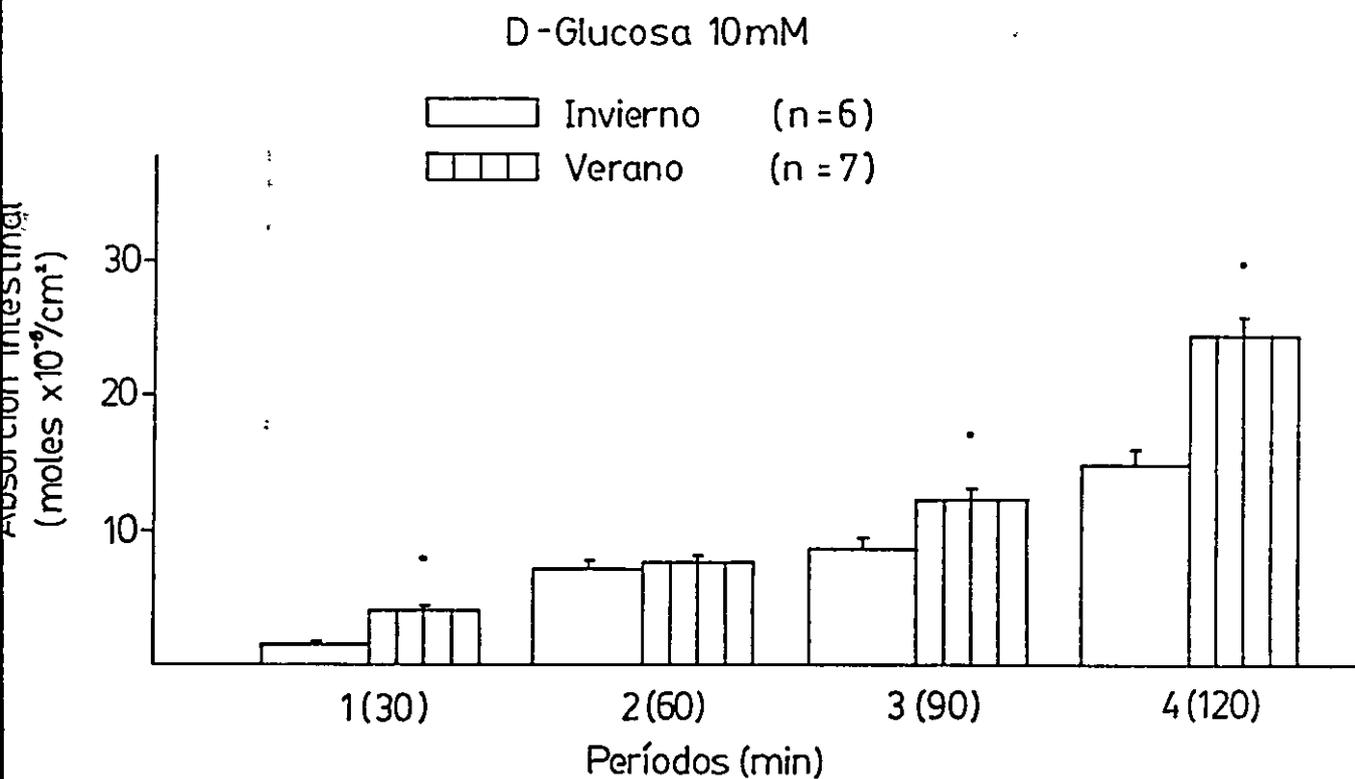


FIGURA 4.- Absorción intestinal (moles  $\times 10^{-7}/\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (5 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de los períodos de verano e invierno.

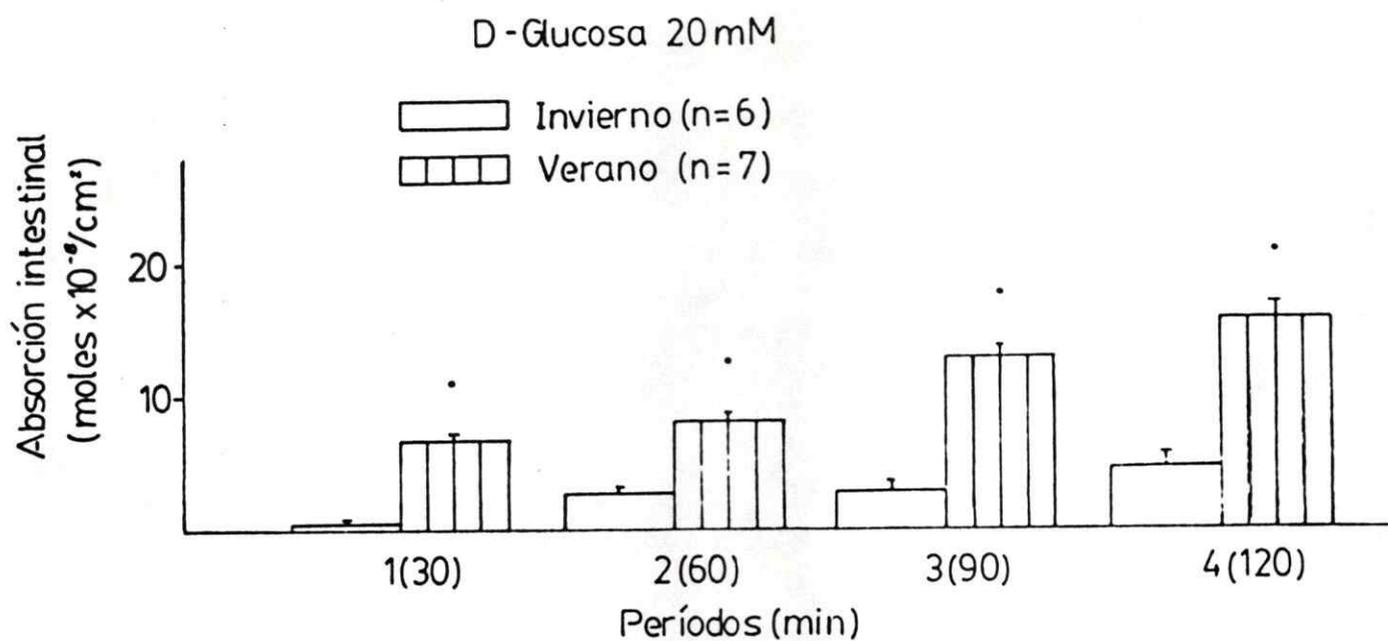
\*  $p < 0.05$



-8

FIGURA 5.- Absorción intestinal (moles x 10<sup>-9</sup>/cm<sup>2</sup>) de D-Glucosa (10 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de los periodos de verano e invierno.

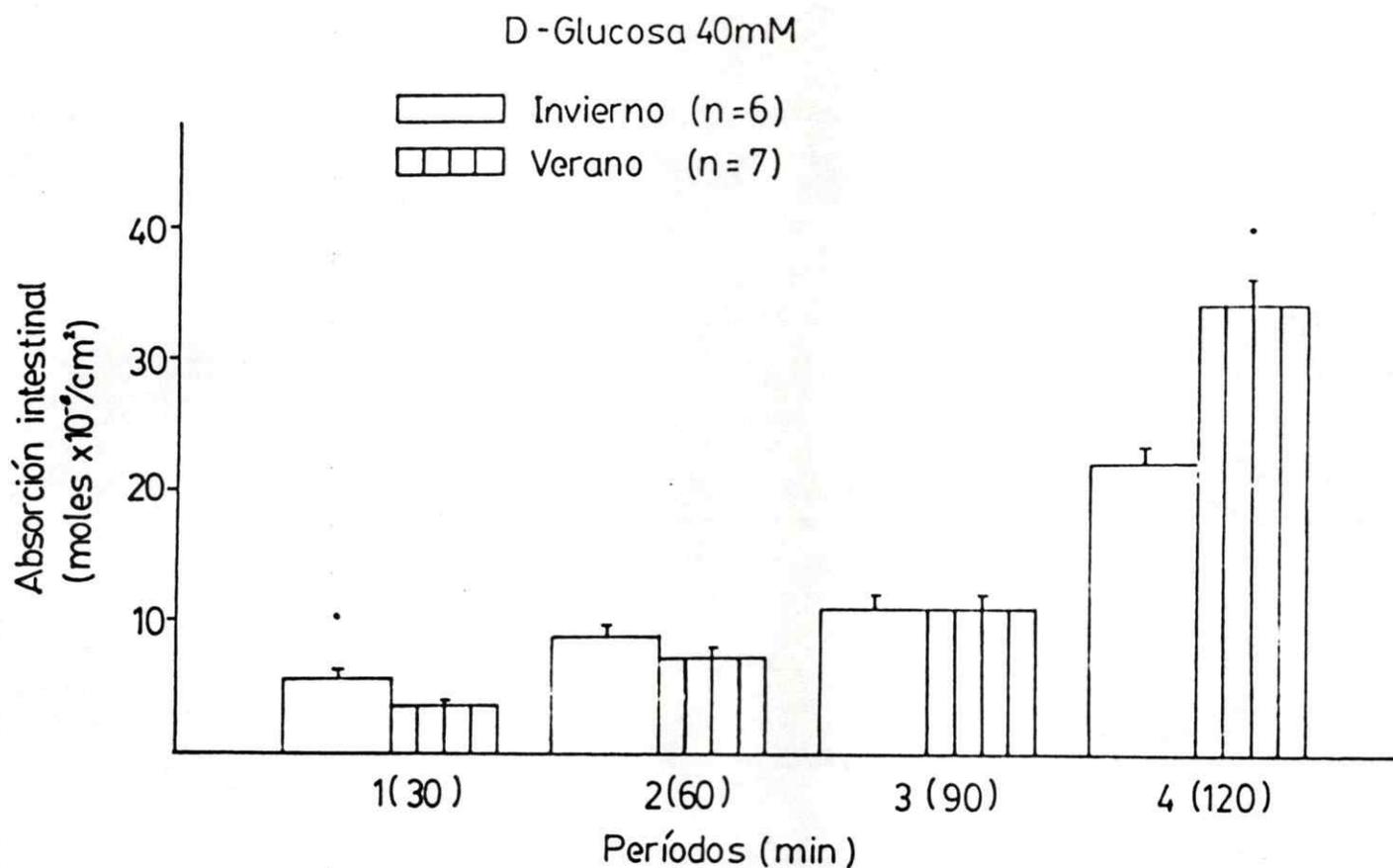
\* p < 0.05



8

**FIGURA 6.-** Absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}/\text{cm}^2$ ) de D-Glucosa (20 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de los periodos de verano e invierno.

\*  $p < 0.05$



-8

FIGURA 7.- Absorción intestinal (moles x 10<sup>-7</sup>/cm<sup>2</sup>) de D-Glucosa (40 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de los periodos de verano e invierno.

\* p < 0.05

TABLA 1. - Absorción intestinal total (2 h de incubación) de L-Tirosina (moles  $\times 10^{-9}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de L.nitidus.

CONCENTRACION L-TIROSINA	ABSORCION INTESTINAL TOTAL	
	VERANO	ESTACION INVIERNO
2.0 mM	44.2 $\pm$ 1.3 †	6.7 $\pm$ 0.7*
3.5 mM	21.2 $\pm$ 0.8	13.8 $\pm$ 1.0*
5.0 mM	54.3 $\pm$ 1.3	9.9 $\pm$ 0.9*

† los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo de verano.

TABLA 2. - Absorción intestinal total (2 h de incubación) de D-Glucosa (moles  $\times 10^{-8}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus*

CONCENTRACION D-GLUCOSA	ABSORCION INTESTINAL TOTAL	
	VERANO	ESTACION INVIERNO
10 mM	24.4 $\pm$ 1.3 †	14.8 $\pm$ 1.2 *
20 mM	15.5 $\pm$ 1.1	4.5 $\pm$ 0.9 *
40 mM	34.0 $\pm$ 1.8	21.8 $\pm$ 1.4 *

† Los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo de verano.

## II.- Efecto de la hormona Tiroxina en la absorción intestinal

---

### 1.- ESTACION DE VERANO

---

#### 1.1.- Absorción intestinal de L-Tirosina

---

Para L-Tirosina 2 mM (figura 8), el grupo control presenta mayor absorción intestinal a partir del periodo 2 de incubación ( $p < 0.05$ ), comparados con los valores del grupo T4. Por otra parte, se observa una disminución significativa de la absorción intestinal en los ejemplares tiroprivos ( $p < 0.05$ ), como era dable de esperar.

Para L-Tirosina 3.5 mM (figura 9), se evidencia mayor absorción intestinal en el grupo T4 en relación al grupo control ( $p < 0.05$ ), incrementándose esta diferencia en el periodo 4 de incubación. En contraposición, se observa una disminución del transporte intestinal en ejemplares tiroprivos ( $p < 0.05$ ).

Para una concentración de L-Tirosina 5 mM (figura 10), el grupo control presenta mayor absorción intestinal en comparación al grupo T4 ( $p < 0.05$ ), especialmente durante el periodo 4.

El transporte intestinal en animales tiroprivos fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ), comparado con los valores del grupo control ( $p < 0.05$ ).

En la Tabla 3, se presenta los resultados como cantidad de L-Tirosina absorbida en 120 minutos de incubación. Se observa que el grupo de ejemplares tiroprivos presenta menor absorción intestinal en las tres concentraciones de sustrato utilizadas ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, comparados con los promedios del grupo control, se evidencia un aumento en la capacidad de absorción intestinal en el grupo T4 ( $p < 0.05$ ), solamente para la concentración 3.5 mM de L-Tirosina. El grupo control presenta mayor absorción intestinal para una concentración de 2 y 5 mM del sustrato, comparado con los valores promedios de los otros dos grupos.

#### 1.2. - Absorción intestinal de D-Glucosa

-----

Para D-Glucosa 10 mM (Figura 11), se observa mayor transporte intestinal en el grupo control en relación a los grupos experimentales ( $p < 0.05$ ), incrementándose esta diferencia en el período 4 de incubación. Se evidencia menor absorción intestinal en ejemplares tiroprivos, comparados con los valores obtenidos para los otros dos grupos ( $p < 0.05$ ).

Para D-Glucosa 20 y 40 mM (figura 12 y 13), se observa mayor capacidad de absorción intestinal en el grupo T4 en relación al control durante la segunda hora de incubación ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, se evidencia una menor

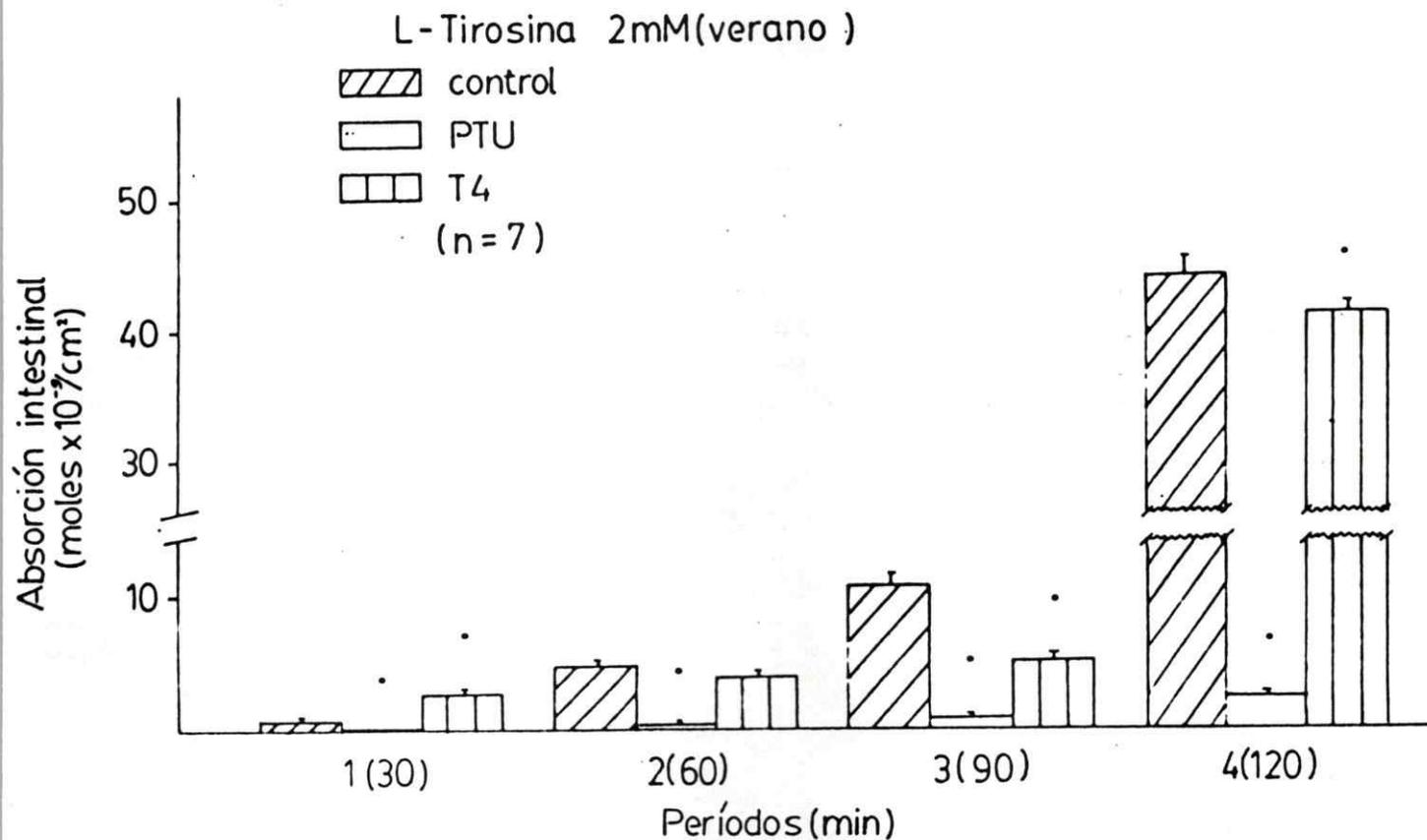


FIGURA 8.- Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1$  ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}/\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (2 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\*  $p < 0.05$

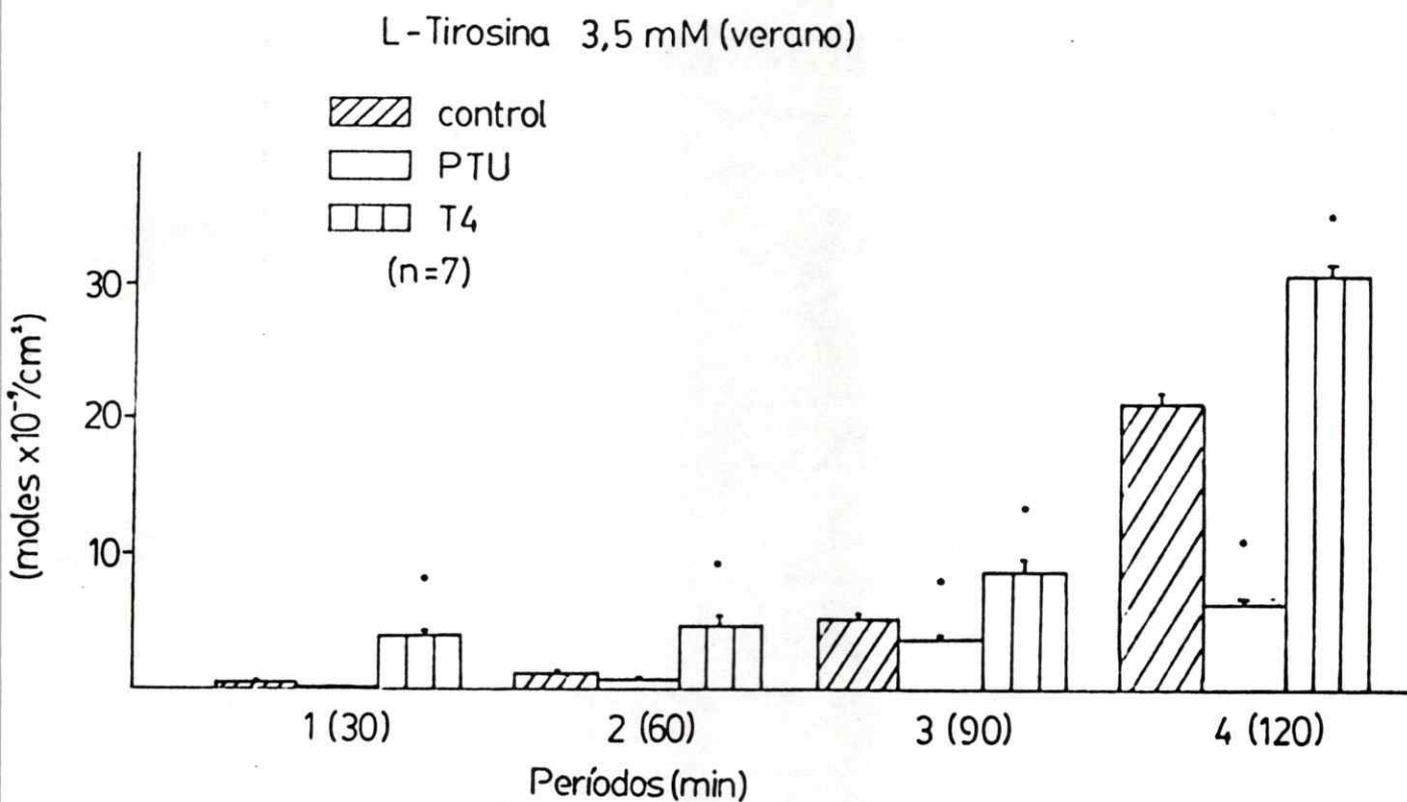


FIGURA 9. - Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1$  ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}$  /  $\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (3.5 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

•  $p < 0.05$

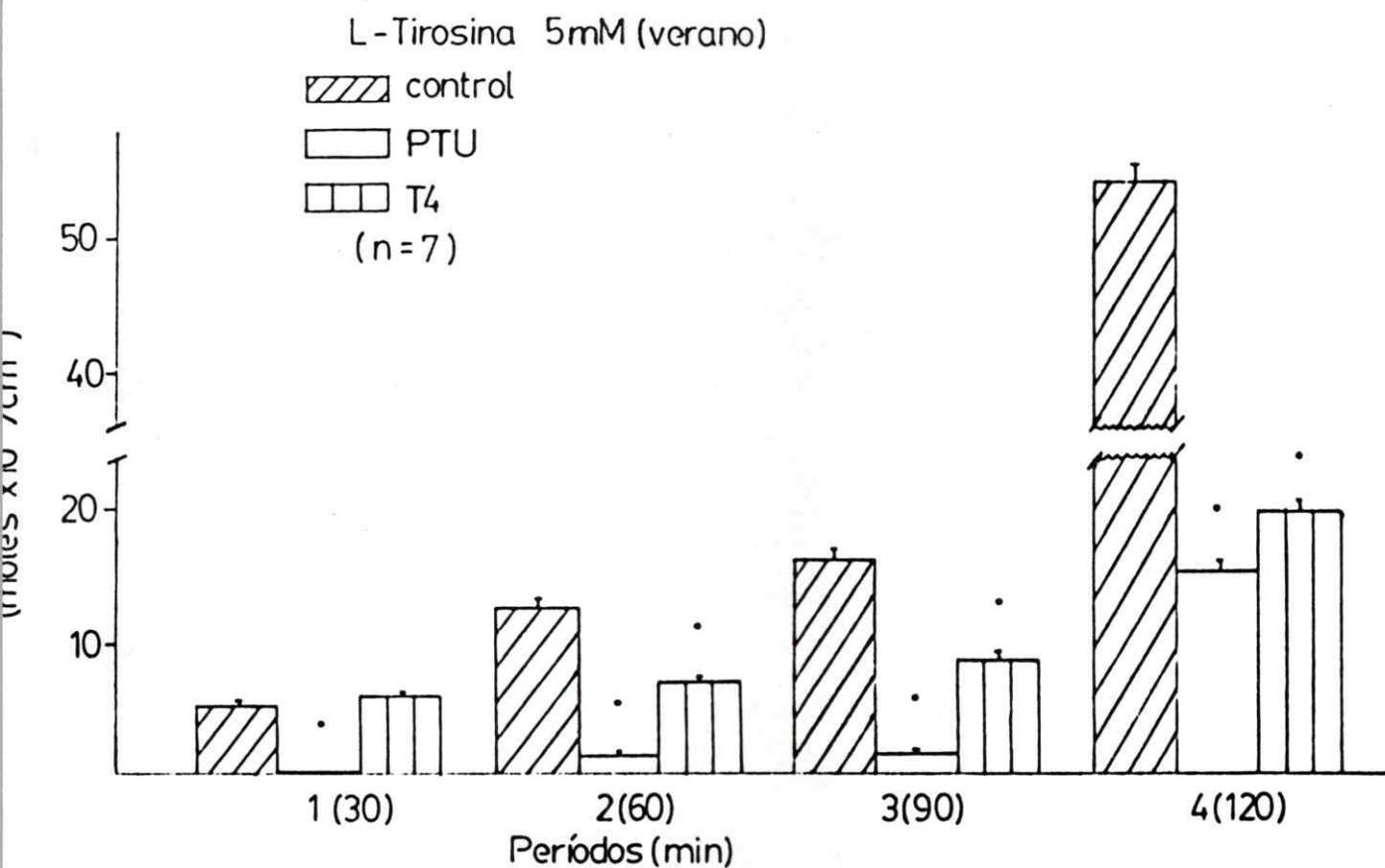


FIGURA 10.- Efecto de T4 (0.04  $\mu$ g/0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles x 10<sup>-9</sup> / cm<sup>2</sup>) de L-Tirosina (5 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

• p < 0.05

TABLA 3. - Absorción intestinal total (2 h de incubación) de L-Tirosina (moles  $\times 10^{-9}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus*, en la estación de verano.

ABSORCION INTESTINAL TOTAL			
CONCENTRACION L-TIROSINA	CONTROL	TRATAMIENTO PTU	T4
2.0 mM	44.2 $\pm$ 1.3 <sup>†</sup>	2.5 $\pm$ 0.3*	41.1 $\pm$ 0.7
3.5 mM	21.2 $\pm$ 0.8	6.2 $\pm$ 0.5*	30.7 $\pm$ 0.8*
5.0 mM	54.3 $\pm$ 1.0 <sup>o</sup>	15.9 $\pm$ 0.8*	19.8 $\pm$ 0.9

† Los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo T4 exógena.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo tiroprivo.

o Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo T4 exógena y del grupo tiroprivo.

absorción intestinal en tiroprivos en relación a los valores obtenidos para los otros dos grupos ( $p < 0.05$ ).

En la Tabla 4, se presenta los resultados como cantidad de D-Glucosa absorbida en 120 minutos de incubación. Se evidencia mayor transporte intestinal en el grupo T4 para D-Glucosa 20 mM y 40 mM ( $p < 0.05$ ), y una menor absorción intestinal en tiroprivos ( $p < 0.05$ ) en las tres concentraciones de sustrato utilizadas.

## 2.- ESTACION DE INVIERNO

-----

### 2.1.- Absorción intestinal de L-Tirosina

-----

El transporte intestinal para L-Tirosina 2 mM es significativamente mayor en el grupo experimental + T4 (exógena), durante el período 4 de incubación ( $p < 0.05$ ) en relación a los valores obtenidos en el grupo control. Se observa menor absorción intestinal en el grupo con ejemplares tiroprivos (Figura 14). Cuando la concentración de L-Tirosina es 3.5 mM (figura 15), se observa mayor transporte intestinal en los ejemplares del grupo control en relación a los grupos experimentales, durante el período 4 de incubación ( $p < 0.05$ ). Se evidencia menor absorción intestinal en tiroprivos ( $p < 0.05$ ).

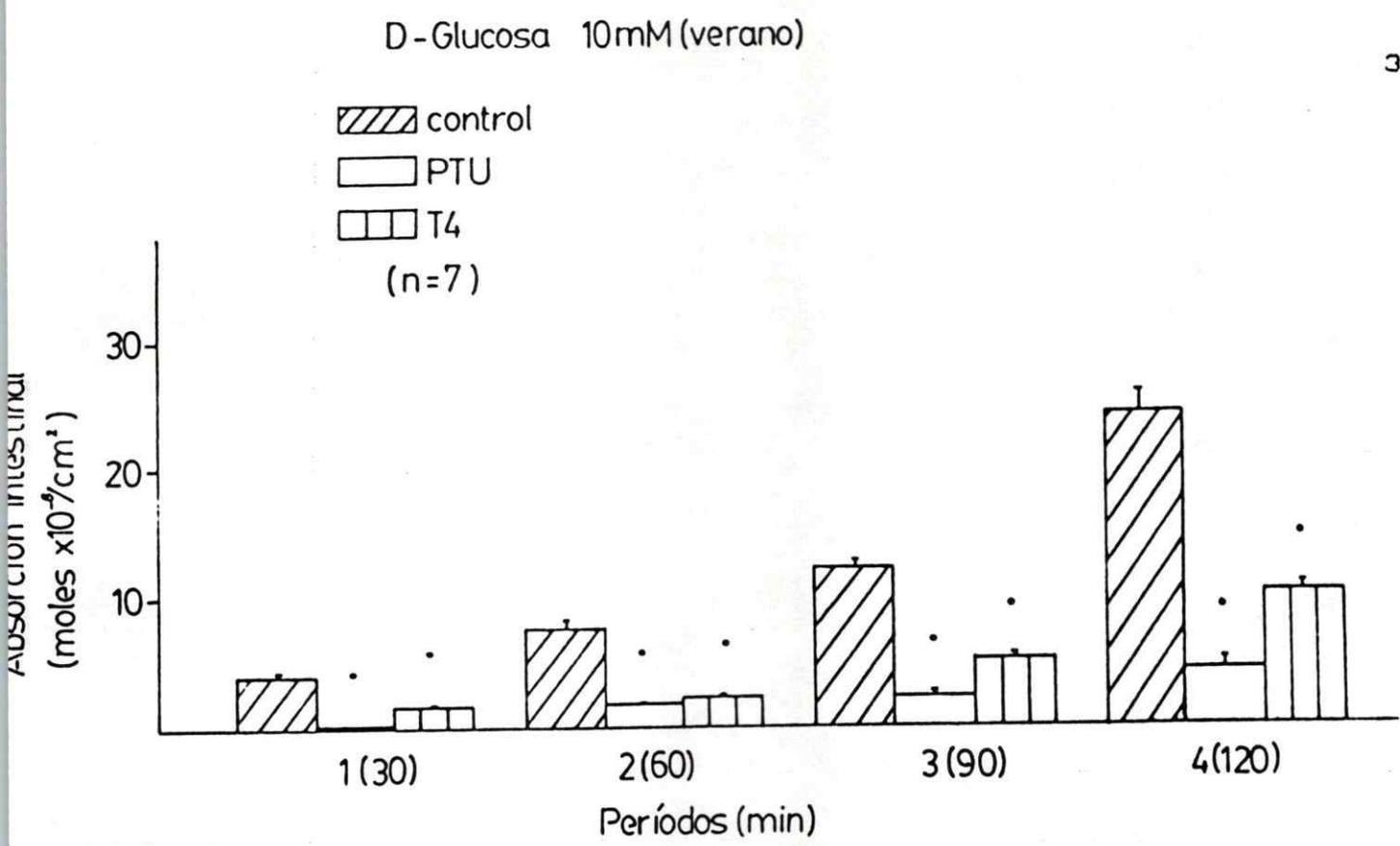


FIGURA 11. - Efecto de T4 (0.04 µg/0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles x 10<sup>-8</sup> / cm<sup>2</sup>) de D-Glucosa (10 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\* p < 0.05

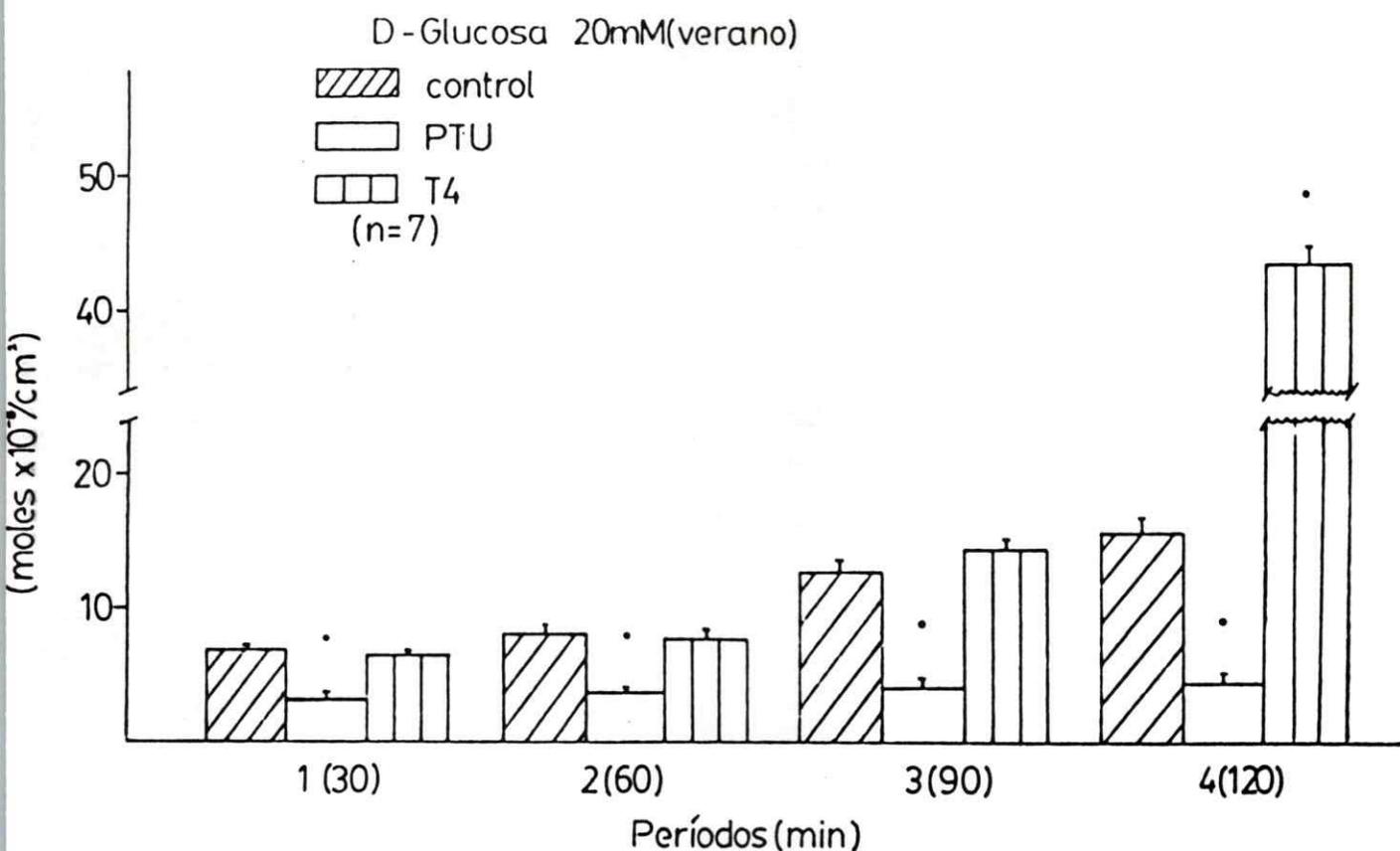


FIGURA 12. - Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1$  ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-8} / \text{cm}^2$ ) de D-Glucosa (20 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

•  $p < 0.05$

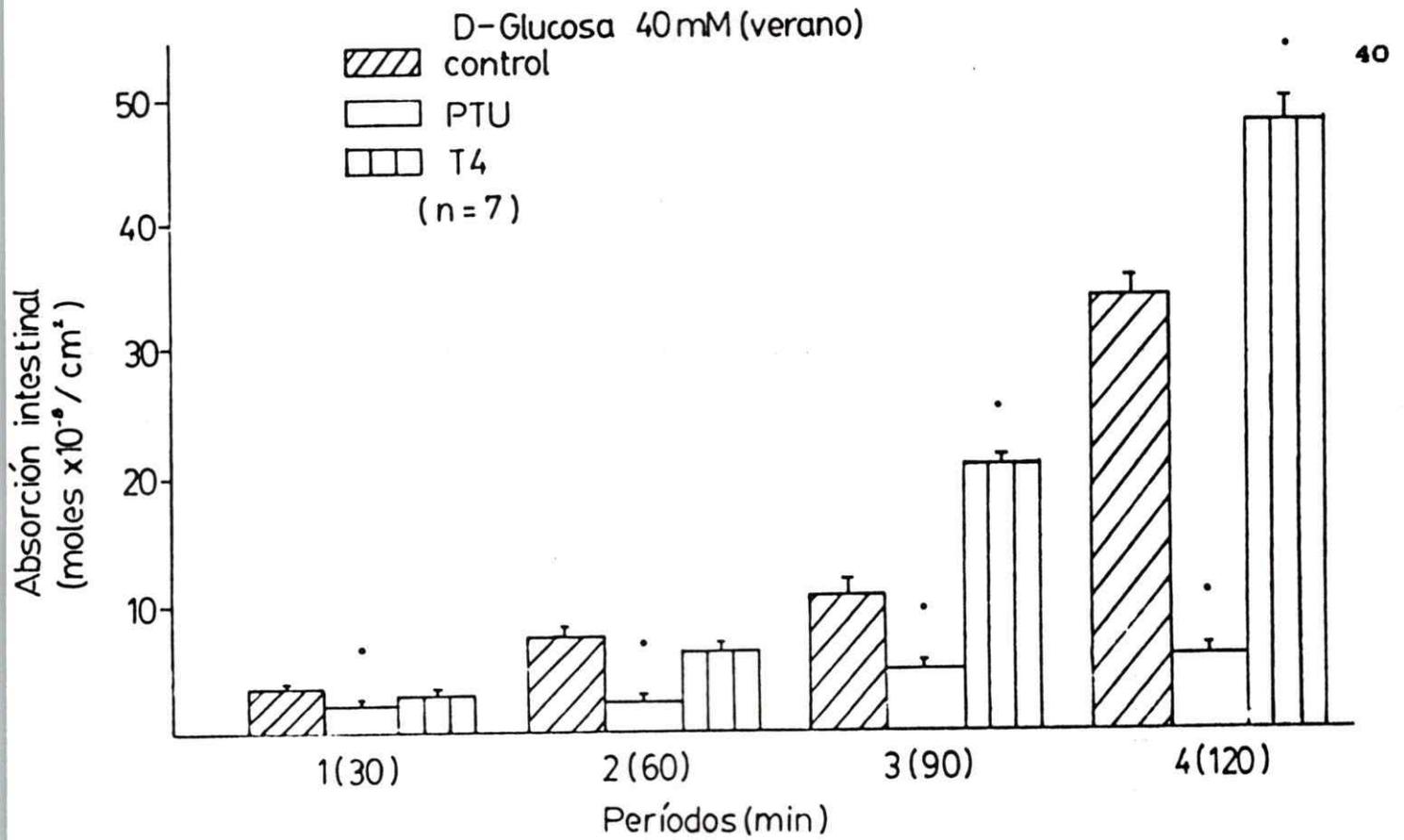


FIGURA 13. - Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ ) y PTU (0.02  $\text{mg}/0.1 \text{ ml}$ ) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-8} / \text{cm}^2$ ) de D-Glucosa (40 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\*  $p < 0.05$

TABLA 4. - Absorción intestinal total (2 h de incubación) de D-Glucosa (moles  $\times 10^{-8}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus*, en la estación de verano.

ABSORCION INTESTINAL TOTAL			
CONCENTRACION D-GLUCOSA	CONTROL	TRATAMIENTO PTU	T4
10 mM	24.4 $\pm$ 1.3 <sup>o</sup>	4.4 $\pm$ 0.6*	10.3 $\pm$ 0.6
20 mM	15.5 $\pm$ 1.1 <sup>†</sup>	4.3 $\pm$ 0.6*	43.7 $\pm$ 1.4*
40 mM	34.0 $\pm$ 1.8	5.9 $\pm$ 0.8*	48.2 $\pm$ 1.8*

† Los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo T4 exógena.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo tiroprivo.

o Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo T4 exógena y del grupo tiroprivos.

En la Figura 16, donde la concentración de L-Tirosina es 5 mM, hay mayor absorción intestinal en el grupo con T4 exógena, durante el periodo 4 de incubación ( $p < 0.05$ ) y un menor transporte intestinal en tiroprivos ( $p < 0.05$ ).

En la Tabla 5, se presenta la cantidad de L-Tirosina absorbida en 120 minutos de incubación, durante la estación de invierno. Se observa una mayor capacidad de absorción, en ejemplares del grupo T4, para L-Tirosina 2 y 5 mM ( $p < 0.05$ ). En contraposición, los ejemplares tiroprivos presentan un menor transporte intestinal en las tres concentraciones de sustrato utilizadas ( $p < 0.05$ ).

## 2.2.- Absorción intestinal de D-Glucosa

-----

Para D-Glucosa 10 mM (Figura 17), se evidencia una mayor absorción intestinal en el grupo control, comparado con los grupos experimentales (T4 exógena y tiroprivos con PTU). Para D-Glucosa 20 y 40 mM (figura 18 y 19), se observa mayor transporte intestinal en ejemplares del grupo T4, incrementándose esta diferencia durante la segunda hora de incubación ( $p < 0.05$ ). En cambio, los ejemplares tiroprivos y controles no difieren significativamente en la cantidad de sustrato transportado en 120 minutos de incubación ( $p > 0.05$ ).

En la tabla 6, se representa la cantidad de D-Glu-

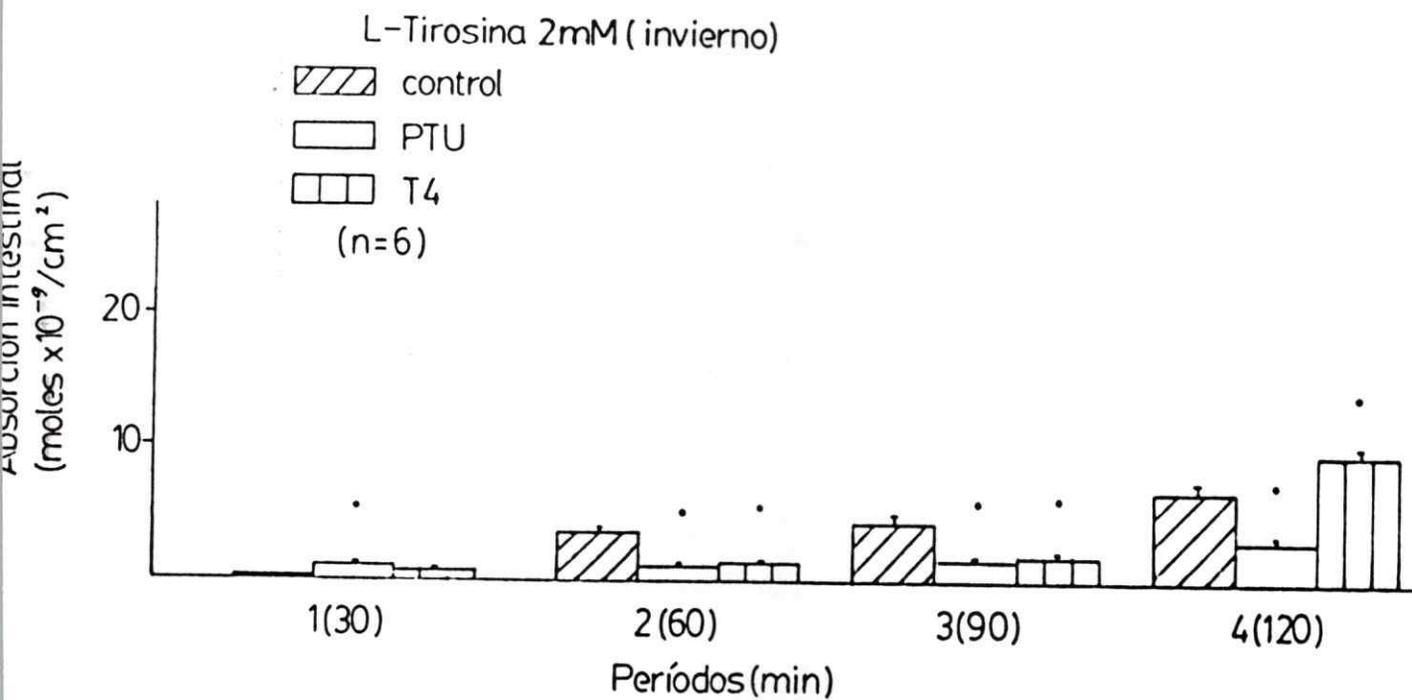


FIGURA 14.- Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}$ /0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}$  /  $\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (2 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\*  $p < 0.05$

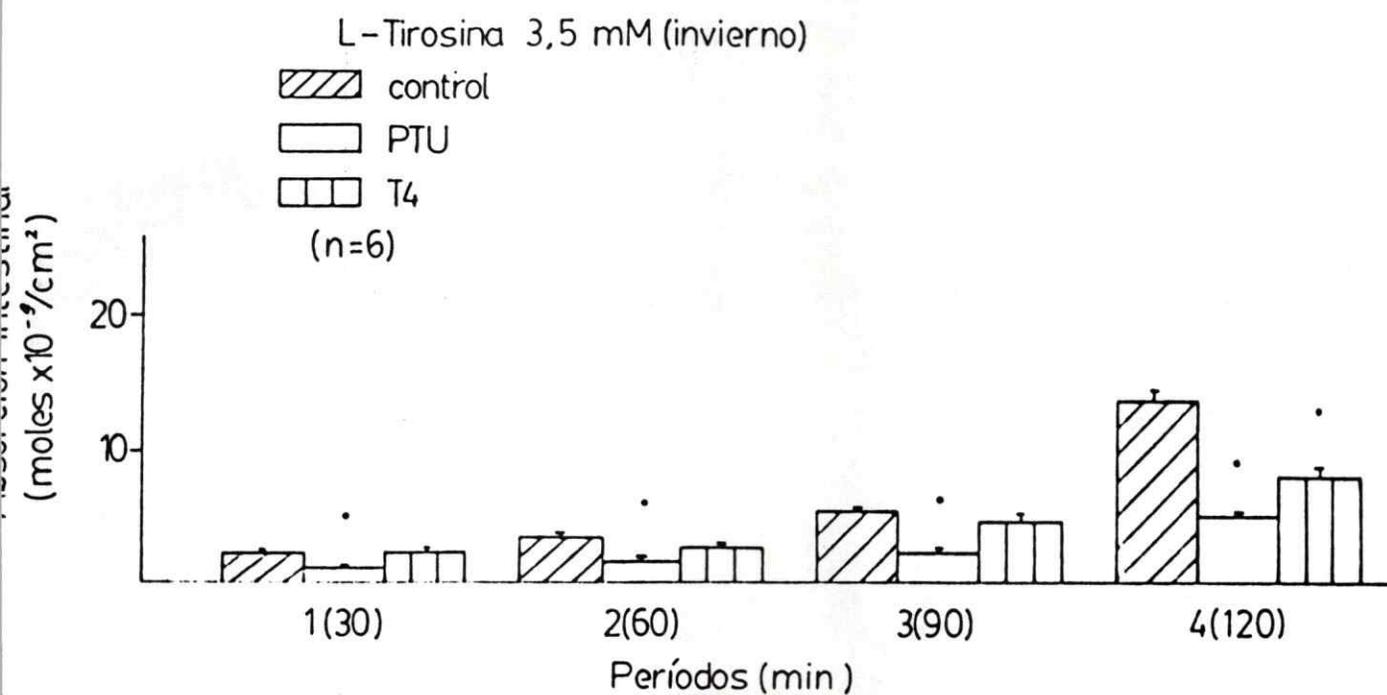


FIGURA 15. Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1$  ml) y PTU (0.02  $\text{mg}/0.1$  ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}$  /  $\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (3.5mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\*  $p < 0.05$

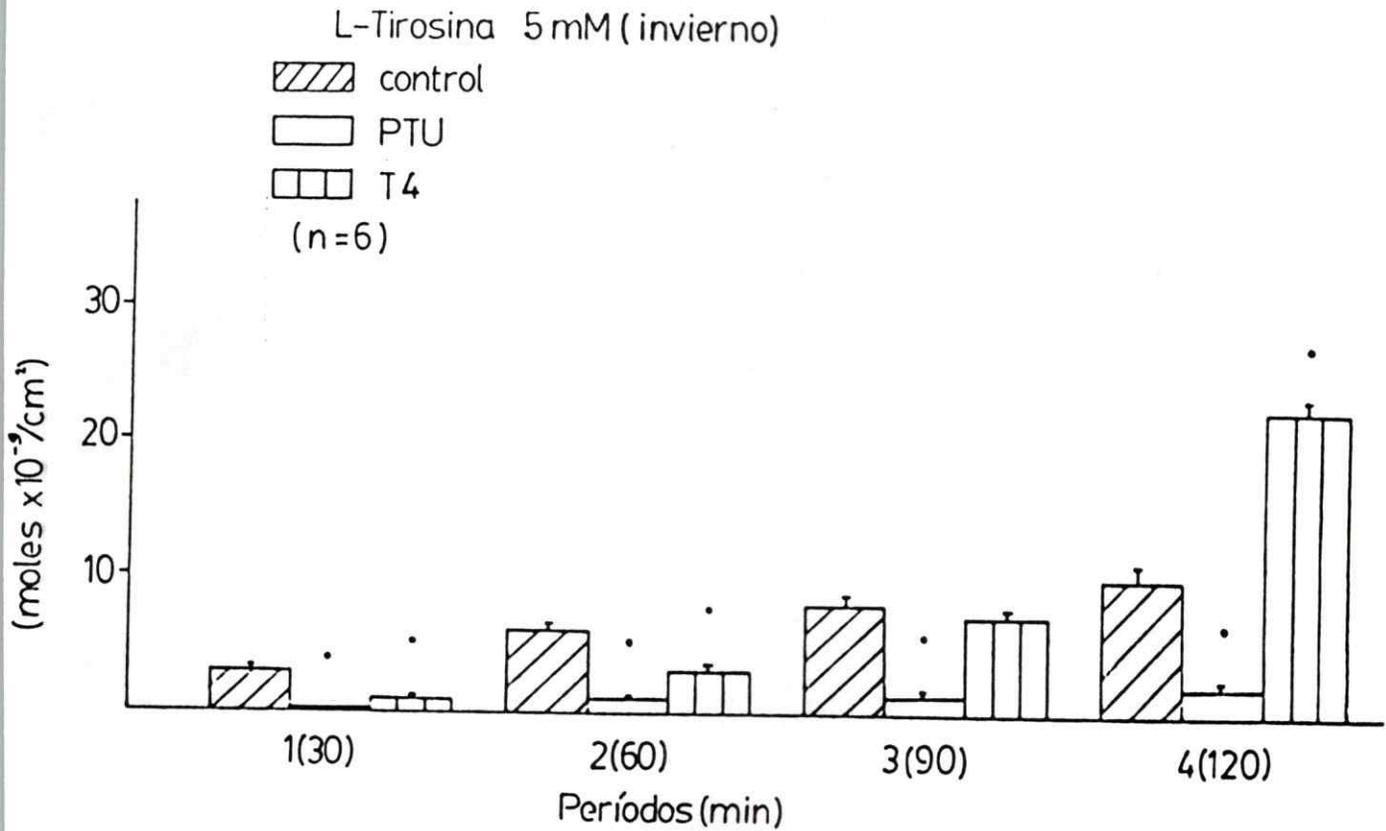


FIGURA 16.- Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1$  ml) y PTU (0.02  $\text{mg}/0.1$  ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-9}$  /  $\text{cm}^2$ ) de L-Tirosina (5 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\*  $p < 0.05$

TABLA 5. - Absorción intestinal total (2 h de incubación) de L-Tirosina (moles  $\times 10^{-9}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus* en la estación de invierno.

ABSORCION INTESTINAL TOTAL			
CONCENTRACION L-TIROSINA	CONTROL	TRATAMIENTO PTU	T4
2.0 mM	6.7 $\pm$ 0.7 <sup>†</sup>	3.0 $\pm$ 0.5*	9.5 $\pm$ 0.6*
3.5 mM	13.8 $\pm$ 1.0 <sup>⊙</sup>	5.3 $\pm$ 0.4*	8.2 $\pm$ 0.6
5.0 mM	9.9 $\pm$ 0.9	2.0 $\pm$ 0.6*	22.4 $\pm$ 1.0*

† Los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo T4 exógena.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo tiroprivo.

⊙ Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo T4 exógena y del grupo tiroprivos.

cosa absorbida en 120 minutos, durante la estación de invierno. Se observa una capacidad de absorción significativamente mayor en el grupo T4 exógena ( $p < 0.05$ ), para las dos concentraciones mayores de sustrato. En general se evidencia menor absorción intestinal en ejemplares tiroprivos ( $p < 0.05$ ).

En la Tabla 7, se representa la absorción intestinal total (2 horas de incubación) de L-Tirosina en intestino evertido de *L. nitidus* para la estación de verano e invierno, de acuerdo a los diversos tratamientos utilizados. Se evidencia mayor efecto de las dosis exógenas de T4, durante la estación de invierno ( $p < 0.05$ ), aumentando el transporte intestinal para dos concentraciones de sustrato. En cambio se observa menor absorción intestinal en ejemplares tiroprivos en las dos estaciones ( $p < 0.05$ ).

La absorción intestinal total (2 horas de incubación) para D-Glucosa se representa en la tabla 8. Las dosis exógenas de T4 producen un aumento del transporte intestinal para las dos concentraciones mayores del sustrato en ambas estaciones ( $p < 0.05$ ).

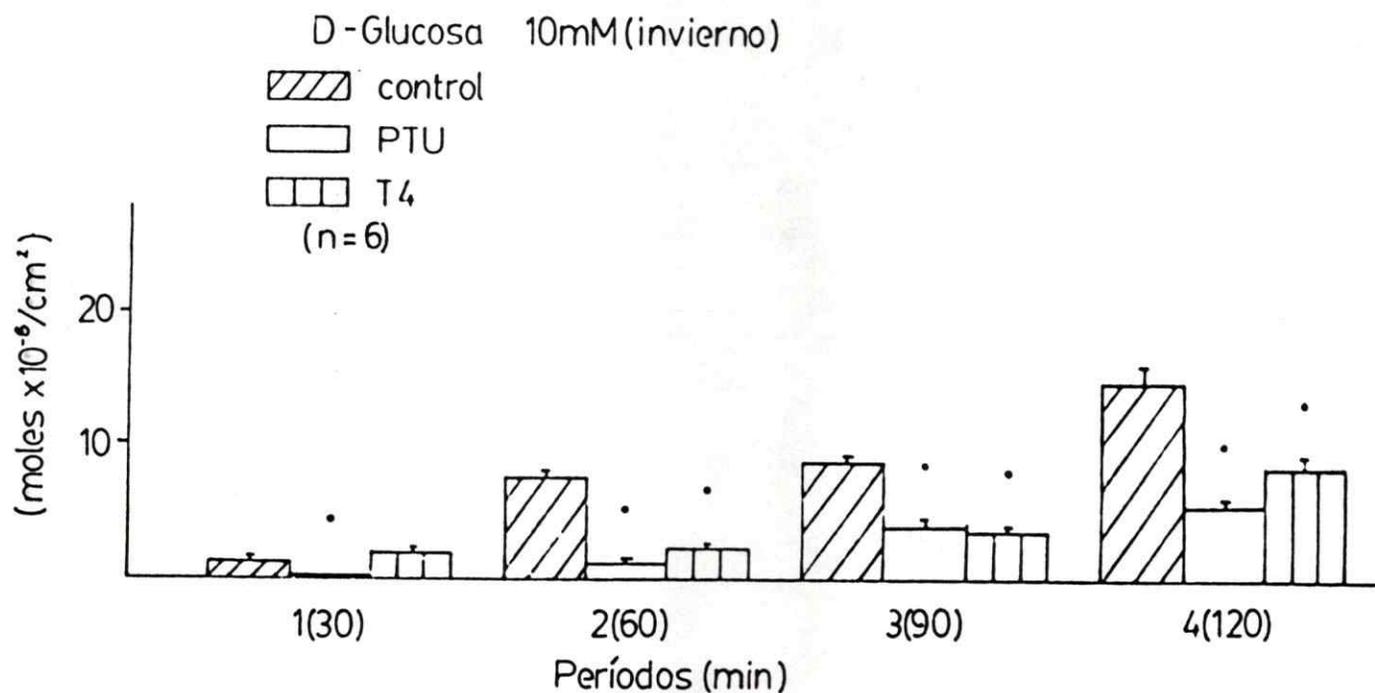


FIGURA 17.- Efecto de T4 (0.04  $\mu\text{g}/0.1$  ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles  $\times 10^{-6}$  /  $\text{cm}^2$ ) de D-Glucosa (10 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

•  $p < 0.05$

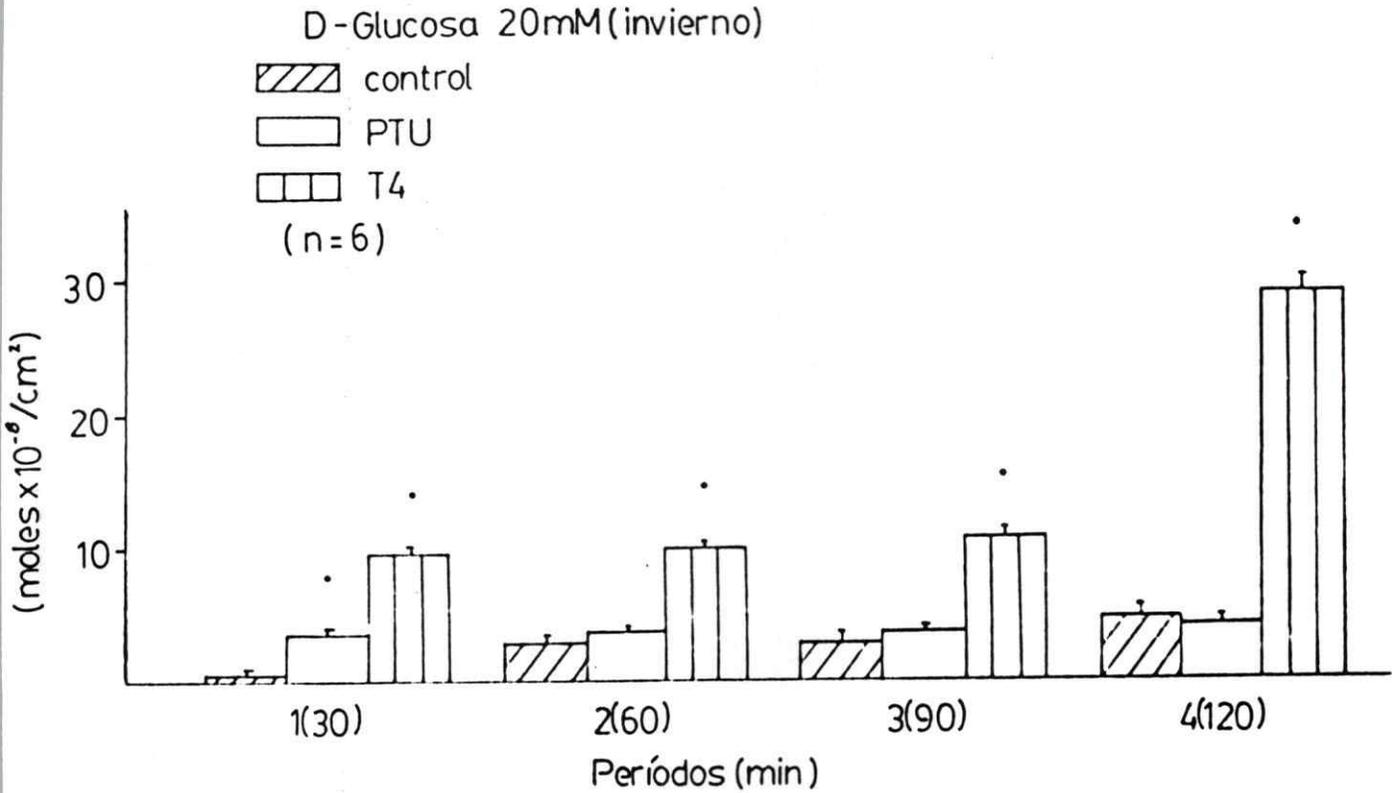


FIGURA 18. - Efecto de T4 (0.04  $\mu$ g/0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles x 10<sup>-8</sup> / cm<sup>2</sup>) de D-Glucosa (20 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\* p < 0.05

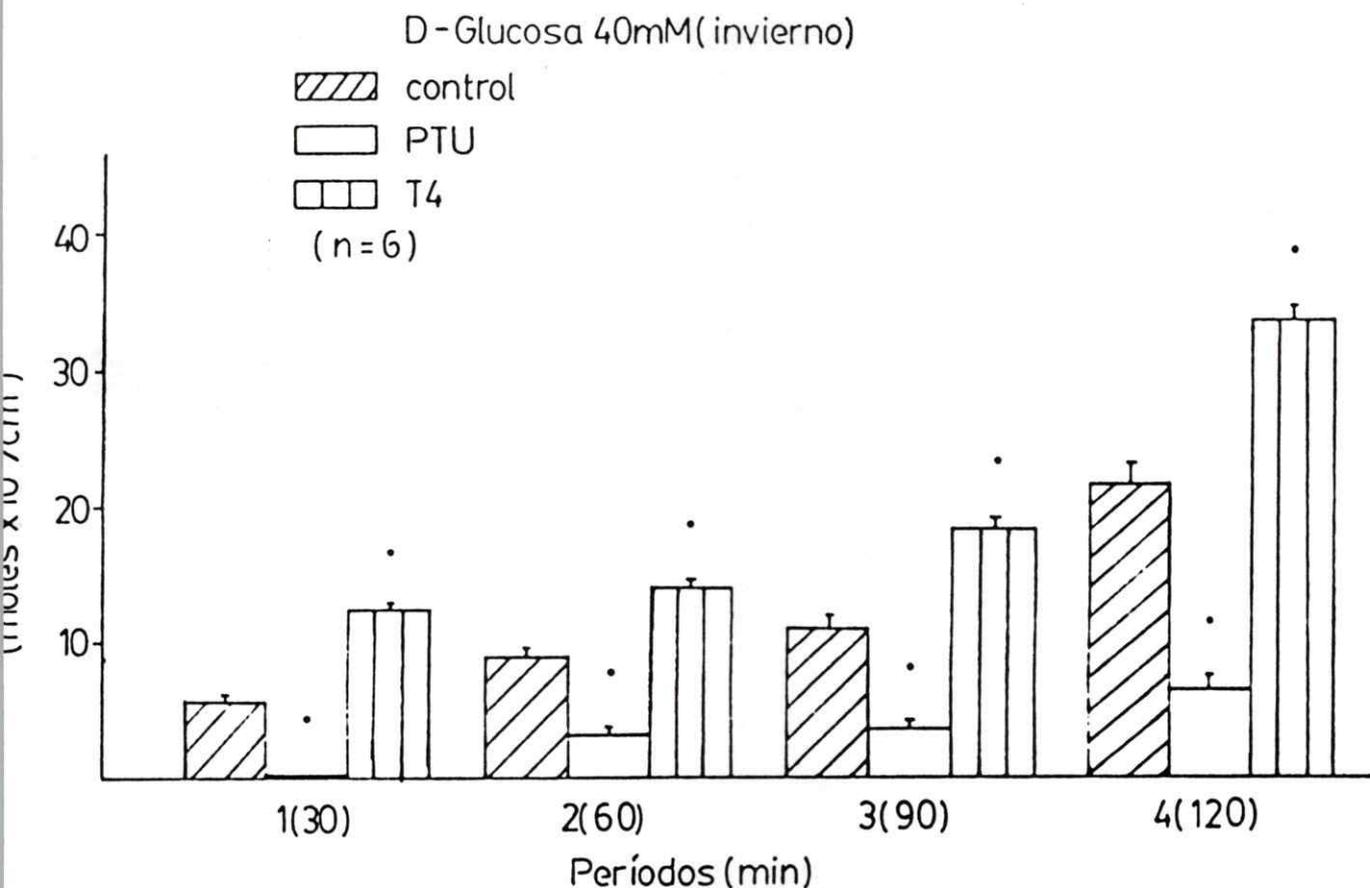


FIGURA 19. -- Efecto de T4 (0.04  $\mu$ g/0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal (moles x 10<sup>-8</sup> / cm<sup>2</sup>) de D-Glucosa (40 mM) en preparación de intestino evertido de *L. nitidus* de la estación de verano.

\* p < 0.05

TABLA 6.- Absorción intestinal total (2 h de incubación) de D-Glucosa (moles  $\times 10^{-8}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus* en la estación de invierno

ABSORCION INTESTINAL TOTAL			
CONCENTRACION D-GLUCOSA	CONTROL	TRATAMIENTO PTU	T4
10 mM	14.8 $\pm$ 1.2 <sup>o</sup>	5.6 $\pm$ 0.7*	8.3 $\pm$ 0.7
20 mM	4.5 $\pm$ 0.9†	4.3 $\pm$ 0.5	28.9 $\pm$ 1.1*
40 mM	21.8 $\pm$ 1.4	6.6 $\pm$ 0.9*	33.7 $\pm$ 1.1*

† Los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo T4 exógena.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo control y del grupo tiroprivo.

o Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores del grupo T4 exógena y del grupo tiroprivos.

TABLA 7.- Efecto de T4 exógena (0.04 µg/0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1 ml) sobre la absorción intestinal total (2 h de incubación) de L-Tirosina (moles x 10<sup>-9</sup> /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L.nitidus* en periodo estival (V) e invernal (I).

ABSORCION INTESTINAL TOTAL						
CONCENTRACION DE L-TIROSINA						
TRATAMIENTO	2.0 mM		3.5 mM		5.0 mM	
	I	V	I	V	I	V
CONTROL	6.7 <sup>†</sup> ± 0.7	44.2 ± 1.3	13.8 <sup>ω</sup> ± 1.0	21.2 ± 0.8	9.9 ± 0.9	54.3 <sup>ω</sup> ± 1.3
PTU	3.0* ± 0.5	2.5* ± 0.3	5.3* ± 0.4	6.2* ± 0.5	2.0* ± 0.6	15.9* ± 0.8
T4	9.5* ± 0.6	41.1 ± 0.7	8.2 ± 0.6	30.7* ± 0.8	22.4* ± 1.0	19.8 ± 0.9

† Los valores se expresan como la media ± E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes (p < 0.05) a los valores del grupo control y del grupo T4 exógena, de la misma estación.

• Promedios significativamente diferentes (p < 0.05) a los valores del grupo control y del grupo tiroprivo, de la misma estación.

ω Promedios significativamente diferentes (p < 0.05) a los valores del grupo T4 exógena y del grupo tiroprivos, de la misma estación.

TABLA 8.- Efecto de T4 exógena (0.04 µg/0.1 ml) y PTU (0.02 mg/0.1ml) sobre la absorción intestinal total (2 h de incubación) de D-Glucosa (moles x 10<sup>-8</sup> /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L.nitidus* en periodo estival (V) e invernal (I).

ABSORCION INTESTINAL TOTAL						
CONCENTRACION DE D-GLUCOSA						
TRATAMIENTO	10 mM		20 mM		40 mM	
	I	V	I	V	I	V
CONTROL	14.8 <sup>o</sup> ± 1.2	24.4 <sup>o</sup> ± 1.3	4.5 ± 0.9	15.5 ± 1.1	21.8 ± 1.4	34.0 ± 1.8
PTU	5.6* ± 0.7	4.4* ± 0.6	4.3 ± 0.5	4.3* ± 0.6	6.6* ± 0.9	5.9* ± 0.8
T4	8.3 <sup>†</sup> ± 0.7	10.3 ± 0.6	28.9* ± 1.1	43.7* ± 1.4	33.7* ± 1.1	48.2* ± 1.8

† Los valores se expresan como la media ± E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes (p < 0.05) a los valores del grupo control y del grupo T4 exógena, de la misma estación.

• Promedios significativamente diferentes (p < 0.05) a los valores del grupo control y del grupo tiroprivo, de la misma estación.

o Promedios significativamente diferentes (p < 0.05) a los valores del grupo T4 exógena y del grupo tiroprivos, de la misma estación.

### III.- Niveles estacionales de Tiroxina en *Liolaemus nitidus*

---

Los niveles hormonales de tiroxina presentados por los ejemplares del grupo control de verano (0.022 ug%), fueron mayores que los presentados por los ejemplares del grupo control de invierno, en los cuales los valores de T4 plasmático fueron menores que el rango de discriminación del método utilizado.

En los ejemplares sometidos a dosis exógenas de Propiltiouracilo, la concentración de la hormona T4, fue menor a 0.01 ug % (valor mínimo registrado por el método), para ambas estaciones. En los grupos experimentales con dosis exógenas de tiroxina, los niveles obtenidos fluctuaron entre 1.3 y 1.5 ug %.

### IV.- Efecto de neurotransmisores en la absorción intestinal

---

En la Tabla 9, se representa la absorción intestinal total (120 minutos de incubación) de L-Tirosina 2 mM, del grupo control y experimentales, a los cuales se les agregó acetilcolina y noradrenalina ( $10^{-5}$  y  $10^{-7}$  M) en el suero fisiológico. Se observa una evidente disminución en la capacidad de absorción intestinal en los valores obtenidos en las preparaciones de los ejemplares de los grupos experimentales con respecto al grupo control ( $p < 0.05$ ).

Se evidencia un mayor transporte intestinal en el grupo tratado con noradrenalina que en las preparaciones de ejemplares pertenecientes al grupo tratado con acetilcolina ( $p < 0.05$ ). Esta diferencia es válida para ambas concentraciones de los neurotransmisores utilizados.

En la tabla 10, se presenta la absorción intestinal total (120 minutos de incubación) de D-Glucosa 10 mM, de los diferentes grupos a los cuales se agregó acetilcolina y noradrenalina. Es dable observar un menor transporte intestinal en las preparaciones de los ejemplares pertenecientes al grupo que se adicionó acetilcolina a la concentración  $10^{-5}$  M ( $p < 0.05$ ).

La absorción intestinal en las preparaciones de los ejemplares de los grupos con acetilcolina con las dos concentraciones usadas, es menor que el control ( $p < 0.05$ ), siendo esta inhibición igual a  $1.3 \times 10^{-7}$  y 9 veces ( $10^{-5}$ ) veces con respecto a los valores obtenidos en las preparaciones del grupo control.

TABLA 9. - Efecto de acetilcolina y noradrenalina sobre la absorción intestinal total (2 h de incubación) de L-Tirosina (moles  $\times 10^{-9}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus* durante la estación de verano.

ABSORCION INTESTINAL TOTAL	
TRATAMIENTO	CONCENTRACION DE L-TIROSINA (2 mM)
CONTROL	44.2 $\pm$ 1.3† *
ACETILCOLINA 10-5M	3.5 $\pm$ 1.1
ACETILCOLINA 10-7M	3.4 $\pm$ 0.9
NORADRENALINA 10-5M	21.8 $\pm$ 0.7 *
NORADRENALINA 10-7M	20.8 $\pm$ 1.0 *

† Los valores se expresan con la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores obtenidos en los grupos experimentales.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores obtenidos en las preparaciones con acetilcolina.

TABLA 10. - Efecto de acetilcolina y noradrenalina sobre la absorción intestinal total (2 h de incubación) de D-Glucosa (moles  $\times 10^{-8}$  /cm<sup>2</sup>) en intestino evertido de *L. nitidus* durante la estación de verano.

ABSORCION INTESTINAL TOTAL	
TRATAMIENTO	CONCENTRACION DE D-GLUCOSA (10 mM)
CONTROL	24.4 $\pm$ 1.3 †
ACETILCOLINA 10-5M	2.7 $\pm$ 1.1 *
ACETILCOLINA 10-7M	18.9 $\pm$ 1.4
NORADRENALINA 10-5M	11.5 $\pm$ 1.0 *
NORADRENALINA 10-7M	31.1 $\pm$ 1.2 *

† los valores se expresan como la media  $\pm$  E.S. de 6-7 ejemplares.

\* Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores obtenidos en los grupos restantes.

• Promedios significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los valores obtenidos en el grupo control y en las preparaciones con la concentración  $10^{-7}$  de los neurotransmisores.

## DISCUSION

-----

## 1.- Metodología utilizada:

-----

La captura de los lagartos adultos de ambos sexos en la localidad de Til-Til, durante el periodo invernal y estival fue dificultosa, especialmente durante la estación de invierno debido a que los animales se ubican en grietas, bajo las piedras o raíces de vegetación diversa. Los ejemplares capturados en verano (n = 95) e invierno (n = 55) fueron separados en grupos de acuerdo al protocolo experimental.

Dado que los animales colectados provienen de una población natural, es posible que pudiese haber diferencias genéticas o en el estado sanitario y nutricional de los ejemplares. Además, a pesar que los animales eran adultos (determinado por características de coloración y tamaño corporal), pueden existir diferencias de edad entre ellos (Penzes, 1980; Lerner, 1984; Vinardell & Bolufer, 1984).

El hecho de utilizar, en el baño de incubación, una solución fisiológica para lagarto (Gomez et al, 1986), aporta los elementos necesarios para reproducir las condiciones fisiológicas de la especie. El baño termorregulado ( $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) reproduce la temperatura preferencial y de actividad de *L. nitidus*. Además, el burbujeo constante con mezcla gaseosa 95% de  $\text{O}_2$  y 5% de  $\text{CO}_2$ , evita que se inhiba por anaerobiosis la

capacidad de absorción (Lerner, 1984).

El tiempo de incubación de 120 minutos parece adecuado para *L. nitidus*, considerando que las mayores diferencias en la absorción intestinal de los diversos grupos se han obtenidos durante los últimos 30 minutos (periodo 4 de incubación). Este resultado es similar a los registrados en *Uromastix hardwickii*, donde el transporte activo de aminoácidos y azúcares fue máximo a las dos horas de incubación (Latif, 1967; Nisa Qadri, 1970).

Se consideró adecuado expresar el transporte intestinal en moles/cm<sup>2</sup> teniendo en cuenta que el tejido intestinal pierde peso, especialmente su capa muscular, durante el periodo de reposo invernal o durante la estivación, aumentando la variación de los resultados obtenidos (Karasov & Diamond, 1983).

## 2.- Comparación estacional de la absorción intestinal:

-----

El transporte intestinal para L-Tirosina (moles x 10<sup>-9</sup> /cm<sup>2</sup>) en los ejemplares de los grupos controles de verano, es notoriamente mayor al presentado por los animales durante la estación de invierno, incrementándose estas diferencias durante los últimos 30 minutos de incubación. La absorción intestinal de L-Tirosina en dos horas de incubación,

es mayor en el periodo estival para las tres concentraciones utilizadas, en comparación con los valores de los ejemplares del periodo invernal.

Un efecto similar se observa en el transporte intestinal de D-Glucosa (moles  $\times 10^{-8}$  /cm<sup>2</sup>) el cual es mayor en la estación de verano en dos horas de incubación, para las tres concentraciones utilizadas, en comparación con la estación de invierno.

Llama la atención que en los grupos controles de verano, la absorción intestinal de la concentración intermedia utilizada para el aminoácido y para el azúcar, es menor en comparación al resto de las concentraciones empleadas en la misma estación. Esto podría deberse a la existencia de grados de afinidad en los mecanismos de transporte intestinal de azúcares y aminoácidos, siendo uno de baja afinidad y otro de mayor afinidad (Berman et al., 1976), actuando ambos sistemas a concentraciones elevadas de sustrato. Por otra parte pueden existir interacciones heterólogas (inhibición mutua) entre sistemas de transporte de aminoácidos y monosacáridos en la mucosa intestinal (Vinardel, 1990), las cuales estarían afectadas por la concentración de los sustratos. A este respecto, se ha planteado dos hipótesis aceptadas para este fenómeno: la de interacción alostérica entre dos sustratos en la membrana borde de cepillo y la teoría del eflujo, que plantea el aumento de la salida de un sustrato desde la célula, inducido por la incorporación de un sustrato heterólogo (Chez et al., 1966;

Read, 1967). Sin embargo, de acuerdo con la metodología utilizada en esta tesis no se aclaran estos aspectos, ni se determina el posible efecto del metabolismo del enterocito en la determinación del transporte intestinal.

Por otra parte, es necesario destacar que los animales capturados en terreno en cada una de las estaciones comparadas, fueron llevados al laboratorio y aclimatizados a la misma temperatura ambiental y humedad relativa, siendo el fotoperíodo utilizado el característico de cada estación (Verano: 14L-10D; Invierno: 10L-14D). Por lo tanto, las diferencias obtenidas en absorción intestinal no pueden atribuirse a cambios en la temperatura ambiental, a pesar que estos organismos son ectotermos. Sin embargo, Latif (1967) y Qadri (1970), plantean que una posible causa para la disminución de la absorción durante la dormancia, sería la disminución en la temperatura corporal de los ejemplares. Csaky y Gallucci (1977), usando sacos evertidos, compararon estacionalmente la absorción intestinal de azúcares y aminoácidos en *Rana pipiens*, llegando a resultados similares, observando una disminución del transporte en la estación de invierno con respecto a individuos de la estación de verano. Los animales fueron mantenidos a luz y temperatura constante, por lo tanto estos autores sugieren la existencia de un ritmo endógeno de absorción de nutrientes para esta especie.

En la regulación adaptativa del transporte de azúcares y aminoácidos en el intestino de los vertebrados pueden

estar asociados mecanismos tales como: cambios anatómicos en la mucosa intestinal, cambios en los sistemas específicos de transporte o cambios en la gradiente de  $\text{Na}^+$  que afectan el transporte de cualquier nutriente acoplado al  $\text{Na}^+$  (Karasov & Diamond, 1983). Csaky y Galluci (1977) sostienen que la causa de las variaciones estacionales en el transporte de azúcares y aminoácidos en *Rana pipiens* depende de los cambios en la gradiente de  $\text{Na}^+$  como consecuencia de una disminución de la actividad de la  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPasa en invierno.

Los resultados obtenidos en *Lioliaemus nitidus* permiten sugerir la existencia de ritmos cíclicos estacionales para el proceso de absorción intestinal de aminoácidos y azúcares. Las variaciones estacionales en el transporte intestinal observados en *L. nitidus*, son coincidentes con los periodos de actividad que presenta la especie en la naturaleza, observándose una disminución de la absorción intestinal durante el periodo invernal. En el presente estudio no se da cuenta de los mecanismos de acción involucrados en este proceso.

De acuerdo al diseño experimental efectuado, se conservaron las características del fotoperiodo correspondiente a la estación de verano e invierno, respectivamente. Por lo tanto los cambios en el fotoperiodo, podrían ser un estímulo llave desencadenante de las diferencias estacionales observadas. Este hecho puede estar asociado con el complejo pineal que se encuentra bien desarrollado en la mayoría de los reptiles y en lagartos, al registrar los cambios de las radia-

ciones solares (Young, 1980), variando la secreción de melatonina, hormona que media muchos efectos sobre el sistema neuroendocrino (Reiter, R., 1987). Al aumentar el período diario de oscuridad (estación de invierno), se produce un aumento en la duración de los niveles de la hormona pineal, llevando el mensaje a los centros donde se sintetiza la hormona (Reiter, 1987).

### 3. - Efecto de la hormona Tiroxina en la absorción intestinal

-----

Estación de Verano: El transporte intestinal para  
-----  
L-Tirosina en los ejemplares tiroprivos con PTU es notoriamente menor para las tres concentraciones de sustrato. Sin embargo, Syme y Levin (1976) observaron un aumento del p.d.max (máxima diferencia de potencial generado), en ratas Sprague-Dawley, mediante la determinación de parámetros cinéticos del transporte de valina in vitro, sin variación de la Km aparente, en animales tiroprivos químicamente con PTU. La absorción de D-Glucosa en los ejemplares tiroprivos presenta inhibición para las tres concentraciones utilizadas. Levin (1969, 1974) plantea que diferencias de concentración plasmática de hormonas tiroideas podrían cambiar el funcionamiento y metabolismo de los enterocitos del intestino delgado, alterando el flujo sanguíneo del tracto alimentario, motilidad, nutrición luminal y población celular.

En *Liolaemus nitidus*, el transporte intestinal total

de L-Tirosina (2 h de incubación), aumenta con dosis exógenas de T4, solamente a la concentración 3.5 mM. Para D-Glucosa, se produce un aumento con las concentraciones mayores del sustrato (20 y 40 mM). Este aumento es coincidente con el obtenido en ratas de la cepa Sprague-Dawley (Segal & Inghar, 1990), donde se estableció que la hormona triyodotironina (T3) produce un aumento del transporte de azúcares, debido al incremento de la actividad intrínseca del sistema de transporte (aumento de  $V_{m\acute{a}x}$  sin cambio de  $K_m$ ).

Estación de Invierno: El transporte intestinal de  
-----  
L-Tirosina y D-Glucosa en ejemplares tiroprivos está inhibido en las diferentes concentraciones de sustrato utilizadas.

Las dosis exógenas de Tiroxina, producen un aumento del transporte intestinal de L-Tirosina 2 mM y 5 mM. Por otra parte, el transporte intestinal total (2 h de incubación) de D-Glucosa 20 y 40 mM, es mayor en ejemplares con dosis de la hormona, en relación a los valores del grupo control. Aparentemente hay aumento en la absorción intestinal de L-Tirosina con dosis exógenas de T4 durante la estación de invierno en comparación al periodo estival, donde la respuesta al tratamiento con T4 es menor.

Por los antecedentes expuestos, las diferencias en el transporte intestinal debido a cambios en los niveles plasmáticos de la hormona tiroxina, podrían deberse a cambios en la gradiente de  $Na^+$  relacionados con cambios en la activi-

dad de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPasa produciéndose cambios en la actividad intrínseca del sistema de transporte acoplado al  $\text{Na}^+$ . Los cambios en los sistemas específicos de transporte pueden modificar a su vez la  $V$  máx. por alguna de las siguientes situaciones: cambios del área de membrana por  $\text{cm}^2$  de intestino; en la densidad de sitios de transporte por área (síntesis o reciclaje de carriers), en los lípidos de la membrana; en la gradiente electroquímica de  $\text{Na}^+$  (Karasov & Diamond, 1983). Es poco probable que cambios anatómicos en la mucosa intestinal, ya sean macroscópicos o microscópicos (altura de las vellosidades y número de vellosidades por unidad de superficie), puedan estar asociados a cambios en el transporte de glucosa y aminoácidos debido a que modificaciones de  $V$  máx están relacionadas con cambios específicos en los sistemas de transporte y no en el área intestinal (Karasov & Diamond, 1983).

#### 4.- Niveles estacionales de tiroxina en *L. nitidus*

-----

De acuerdo a los resultados obtenidos por radioinmunoanálisis hay diferencias estacionales en los niveles plasmáticos de la hormona entre el periodo estival e invernal, siendo mayor la concentración de tiroxina durante la estación de verano. En los animales que recibieron dosis exógenas de PTU, se produjo una inhibición de la síntesis de hormonas tiroideas (Goodman, 1967). La concentración de T4 fue menor al valor mínimo detectado por el método. En los ejemplares que recibieron dosis exógenas de tiroxina, los niveles plasmáticos

obtenidos fueron elevados en relación al grupo control de verano (0.022 ug %).

De acuerdo a los resultados obtenidos, existe una relación entre cambios estacionales en los niveles plasmáticos de la hormona tiroxina y las variaciones estacionales en absorción intestinal de L-Tirosina y D-Glucosa. Los ejemplares tiroprivos de ambas estaciones, presentan una menor capacidad de absorción, comparados con los valores obtenidos de los otros dos grupos.

El tratamiento con dosis exógenas de T4, produce un aumento del transporte intestinal, con tendencia a mayor respuesta para L-Tirosina, durante la estación de invierno. La absorción intestinal de D-Glucosa, aumenta para las concentraciones 20 y 40 mM, en las dos estaciones comparadas.

##### 5.- Efecto de neurotransmisores en la absorción intestinal

---

Los resultados obtenidos demuestran una inhibición de la absorción intestinal en las preparaciones de los animales de los grupos adicionados con acetilcolina y noradrenalina, comparados con los valores de las preparaciones del grupo control, siendo el efecto inhibitorio mucho más marcado en el primer caso. Por otra parte, no se observa diferencia de dosis-respuesta para el transporte de D-Glucosa y L-Tirosina en la mayoría de los casos, excepto cuando la concentración

-7

de noradrenalina es  $10^{-5}$  M, siendo el transporte intestinal de D-Glucosa mayor que en presencia de una concentración de  $10^{-5}$  M del neurotransmisor.

Se sabe que existen diversos factores que pueden modificar la eficiencia nutritiva de un animal, entre ellos la capacidad de transporte del epitelio, superficie y longitud intestinal, además del tiempo de tránsito de los nutrientes (Karasov & Diamond, 1983). De ahí que es dable esperar, que in vivo, un neurotransmisor, como acetilcolina, que es capaz de aumentar la motilidad intestinal, podría indirectamente, disminuir la absorción intestinal, al disminuir el tiempo de tránsito del alimento. Por otro lado, un neurotransmisor capaz de disminuir la motilidad, como ocurre con la noradrenalina, podría aumentar la absorción intestinal, al aumentar el tiempo de tránsito. Por otra parte, es posible que estos neurotransmisores modifiquen la actividad de la  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPasa del epitelio intestinal. Sin embargo, se desconoce los mecanismos moleculares mediante los cuales estas hormonas regulan la actividad de la bomba de sodio (Rossier et al, 1987).

Hay que destacar que los resultados obtenidos in vitro proporcionan antecedentes preliminares que deben ser complementados con experimentos de perfusión in vivo y con el registro de posibles cambios en la actividad de la  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPasa producidos por estos neurotransmisores, en trabajos posteriores.

## 6.- Proyecciones de esta línea de investigación

-----

Los resultados obtenidos en el trabajo efectuado proporcionan antecedentes que permiten comprender algunos aspectos de la regulación adaptativa del transporte de azúcares y aminoácidos en el intestino de *Liolaemus nitidus*.

Sería importante desarrollar investigaciones relacionadas con el rol que la glándula pineal podría tener en el fotoperíodo y la posible relación con el transporte intestinal de nutrientes; determinar los efectos de cambios en el fotoperíodo durante la estación de verano e invierno (inversión del fotoperíodo) y determinar el transporte intestinal en condiciones de "free running". De esta manera se podría comprender las bases que regulan las diferencias estacionales en absorción intestinal de azúcares y aminoácidos en la especie estudiada.

Es importante estudiar el mecanismo de acción de las hormonas tiroideas en reptiles a nivel de los enterocitos, especialmente sobre la bomba de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ , y sobre los transportadores del epitelio en el lado mucoso.

Hay diferentes variables que influyen en la eficiencia nutritiva, entre las que se pueden mencionar: actividad enzimática, motilidad intestinal, tiempo de tránsito de los nutrientes, mecanismos de absorción intestinal. Además en la dimensión del nicho trófico de los organismos influye la

calidad y oferta de alimento en el ambiente, selectividad de la dieta, tasa de ingesta de alimento, requerimientos energéticos, entre otras variables (Waldschmidt & Porter, 1986).

No está claro si la dieta que ha tenido un lagarto en estado juvenil afecta la capacidad de transporte intestinal en el adulto. Además, es importante conocer si el proceso de absorción de nutrientes, en reptiles, es similar en juveniles y adultos de la misma especie, a pesar de los posibles cambios que presenten en el rango alimentario. La especie en estudio presenta una amplia distribución geográfica (Donoso-Barros, 1966; Jaksic & Fuentes, 1990) con probables modificaciones en el rango alimentario, desconociéndose si hay diferencias en el flujo intestinal en grupos poblacionales diferentes.

Aproximadamente el 2% de todas las especies de lagartos son herbívoros (Pough, 1973). Estos organismos presentan en su tracto digestivo microorganismos o nemátodos simbioses, que participan en la digestión de compuestos celulósicos (Zimmerman, 1989). *Liolaemus nitidus* es una especie preferentemente insectívora (Jaksic y Fuentes, 1980), con tendencia a la herbivoría en ejemplares de mayor tamaño. Este consumo de componentes vegetales explicaría la presencia de nemátodos en el contenido estomacal de esta especie, descrito por Jaksic y Fuentes (1980), produciendo un aumento de la eficiencia digestiva del lagarto.

Si se considera que la calidad y abundancia de la

dieta varía en la naturaleza, al aumentar la tasa de ingesta en estos animales y disminuir el tiempo de tránsito de los nutrientes en el tracto digestivo, cuando el alimento es abundante, habría una alta extracción de energía alimentaria respecto al tiempo. Alternativamente cuando la disponibilidad de alimento es menor, disminuiría el tiempo de tránsito de los nutrientes, lo que aumentaría la eficiencia digestiva, al extraer mayor cantidad de energía por cada unidad de masa de alimento (Sibly, 1981).

Es probable que al conocer la respuesta a estas interrogantes, se comprenda mejor algunos mecanismos adaptativos que pueden influir en la distribución geográfica de la especie, al estar influyendo en el rango de tolerancia a diversos factores ambientales, selección de hábitat y capacidad competitiva de la especie.

## CONCLUSIONES

-----

- 1.- La capacidad de absorción del epitelio intestinal para D-Glucosa y L-Tirosina de los ejemplares colectados en la estación de verano es mayor que la presentada por animales de la estación de invierno.
- 2.- Los ejemplares de la especie estudiada presentan cambios estacionales en los niveles de tiroxina plasmática, siendo mayores los valores obtenidos en animales de la estación de verano en comparación con los lagartos de la estación de invierno.
- 3.- En general, el tratamiento con dosis exógenas de T4 aumenta el flujo intestinal de D-Glucosa y L-Tirosina, siendo esto especialmente notorio en la estación de invierno.
- 4.- Los ejemplares tiroprivos con PTU presentan una marcada disminución del transporte de D-Glucosa y L-Tirosina comparados con animales intactos (control), durante las estaciones de invierno y verano.
- 5.- Existe una estrecha relación entre los cambios de los niveles estacionales de T4 plasmática y la capacidad de

absorción de D-Glucosa y L-Tirosina del epitelio intestinal en *Liolaemus nitidus*.

- 6.- Hay una disminución de la absorción intestinal en preparaciones in vitro de ejemplares pertenecientes a los grupos tratados con acetilcolina y noradrenalina, con respecto al grupo control.

## BIBLIOGRAFIA

1. - Alvarado, F and Mahmood, A. (1974) Cotransport of organic solutes and sodium ions in the small intestine: A general model aminoacid transport. *Biochemistry* 13: 2282-2890.
2. - Berman, W. et al (1976) In: Vinardell, M. (1990) mutual inhibition of sugars and aminoacid intestinal absorption. *Comp. Biochem and Physiol.* Vol 95A, N°1.
3. - Bjornal, K. A. (1979) Cellulose digestion and volatile fatty acid production in the green turtle, *Chelonia mydas*. *Comp. Biochem. Physiol.* 63: 127-133.
4. - Bjornal, K. A. (1987) Digestive efficiency in a temperature herbivorous reptile, *Gopherus polyphemus*. *Copeia* (3): 714-720.
5. - Bolufer, J; Santos, F. J and Villa, A. (1982) Interactions between monosacharides and leucine in basolateral membrane of isolated chick intestinal epithelial cells. *Rev. Esp. Fisiol.* 38: 65-70.
6. - Bogert, C. M. (1949) Thermoregulation in reptiles, a factor in evolution. *Evolution* 3: 195-211.
7. - Brattstrom, B. (1965) In: Valencia, J. and Jaksic, F. M. Relations between activity temperature and preferred temperature of *Liolaemus nitidus* in central Chile. *Lacertidae: Iguanidae. Studies on neotropical fauna and environmental* 16: 165-167.

8. - Cei, J.M (1986) Reptiles del centro, centro-oeste y sur de la Argentina. Herpetofauna de las zonas áridas y semiáridas. CRICYT, Mendoza, Argentina.
9. - Chez, R.A. et al (1966) Effect of sugars on transport of alanine in intestine. Science 153, 1012.
10. - Chopra, I, J. (1972) A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. J.Clin. Endocrinol. Metab. 34: 938.
11. - Christian, K.A., Tracy, C.R. and Porter, W.P. (1984) Diet, digestion and food preferences of Galapagos land iguanas. Herpetologica 40: 205-212.
12. - Cowles, R.B and C.M. Bogert (1944) A preliminary study of thermal requirements of desertic reptiles. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 83: 261-296.
13. - Csaky, T.Z. and E. Gallucci (1977) Seasonal orientation in the active transporting ability and in the membrane ATPase activity of the frog intestinal epithelium. Biochem. Biophys. Acta 466: 521-527.
14. - Davenport, H.W. (1974) Physiology of the digestive tract. Year Medical Publishers, INC. Third Edition.
15. - Dawson, W.R. (1975) On the physiological significance of the preferred body temperatures of reptiles. In: D.M. Gates & R.B. Schmerl. Perspectives of biophysical ecology, Ecological Studies 12: 443-473.
16. - Donoso-Barros, R (1966) Reptiles de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago.

17. - Eakin et al. (1959) The Thyroid. In Biology of the reptilia. Vol.3 pp 218. Academic Press, London, New York.
18. - Eggert (1936) The Thyroid. In Biology of the reptilia. Vol. 3 pp 213. Ac.Press, London, New York.
19. - Evans & Hegre (1938) The Thyroid. In Biology of the reptilia. Vol 3 pp 218. Ac.Press, London, New York.
20. - Evans & Clapp (1939) In: A textbook of compararive endocrinology. Wiley and Sons. Inc. New York, London Sydney.
21. - Evans (1959) In: A textbook of compararive endocrinology. Wiley and Sons. Inc, New York, London, Sydney.
22. - Fuentes, E. R. & Di Castri, F. (1975) Ensayo de herbivoría experimental en especies de *Liolaemus* (Iguanidae) chilenos. An.Mus.Hist.Nat. Valparaíso 8: 66-75.
23. - Fuentes, E. R. (1976) Ecological convergence of lizard communities in Chile and California. Ecology 51(1): 3-17.
24. - Fuentes, E. R. (1977) Autoecología de *Liolaemus nigromaculatus* (Lacertidae, Iguanidae). An.Mus.Hist. Nat. Valparaíso 10: 169-177.
25. - Fuentes, E. and Jaksic, F. (1979) Activity temperatures of eight *Liolaemus* (Iguanidae) species in Central Chile. Copeia (3): 546-548.
26. - Ganong, W. (1982) Fisiología Médica, pp 255-268. Ed. Manual Moderno. México.

27. - Gans, C. and Parsons, T. (1970) Endocrine sistem in: *Biology of the reptilia*, vol 3 pp 207-313. Ac.Press, London, New York.
28. - Garrahan, P & Rega, A. (1977) Transporte a través de la membrana celular. *Monografía 18, O.E.A. Serie de Biología.*
29. - Gomez, T., Badia, P, Bolaños, A. & Lorenzo, A. (1986) Transport of galactose and sodium across Lizard duodenum. *Comp. Biochem. Physiol.* 85A (1): 103-107.
30. - Gorbman, A. and Bern, H. (1964) A textbook of comparative endocrinology. Wiley and Sons. Inc, New York, London, Sydney. pp 99-172.
31. - Goodman, L. (1967) The farmacological basis of therapeutics. Collier Mc Millan, Limited, London. pp 1488-1490.
32. - Hamilton, J. & M.Coe (1982) Feeding, digestion, and assimilation of a population of giant tortoises (*Geochelone gigantea* (schweigger)) on Aldana Atoll. *J.Arid.Environ.* 5: 127-144.
33. - Heath (1964) In: Valencia, J. and Jaksic, F. Relations between activity temperature and prefered temperature of *Liolaemus nitidus* in Central Chile. *Lacertidae: Iguanidae. Studies on neotropical fauna and environmental* 16: 165-167.
34. - Heatwole, H. (1976) Thermal ecology in: *Reptile ecology* pp 35-46. University of Queensland Press.
35. - Huey, R, B. (19 82) Temperature, physiology and ecology of reptiles. In: Zimmerman, L. (1989) *Interactions*

- between the environmental and ectotherming and herbivory in reptiles. *Physiological Zoology* 62(2): 374-409.
36. - Hukuhara, T. (1961) In: *Physiology of the digestive tract*. H. Davenport pp 69-77. 1969.
37. - Jaksic, F. M. (1978) ¿A qué tamaño se hace herbívora una lagartija?. *Anales del Museo de Historia Natural* 11: 113-116.
38. - Jaksic, F. M. & Fuentes, E. R. (1980) Observaciones autoecológicas en *Liolaemus nitidus* (Lacertilia; Iguanidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 15: 109-124.
39. - Jaksic, F. M. & Schwenk, K. (1983) Natural history observations on *Liolaemus magellanicus*, the southernmost lizard in the world. *Herpetologica*, 39(4): 457-461.
40. - Karasov, W. H. & Diamond, J. M. (1983) Adaptive regulation of sugar and amino acid transport by vertebrate intestine. *Am. J. Physiol.* 245: G443-G462.
41. - Karasov, W. H. & Diamond, J. M. (1984) Digestive adaptations for fueling the cost of endothermy. *Science* 228: 202-204.
42. - Kimmich, G. A. (1979) Intestinal transport: studies with isolated epithelial cells. *Environmental Health perspectives* 33: 37-44.
43. - Kimmich, G. A. & Rendles, J. (1984) Sodium-sugar coupling stoichiometry in chick intestinal cells. *Am. J. Physiol.* 247: C74-C82.

44. - Kobayashi & Gorbman (1959) In: Comparative endocrinology the hormones. Academic Press.
45. - Latif, S. A., Za in, B. and M. Zain-ul-abedin (1967) Intestinal transport of sugars in a lizard during hibernation and activity. *Comp. Biochem. Physiol.* 23: 121-128.
46. - Lerner, J. (1984) Cell membrane aminoacid transport processes in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 78A(2): 205-215.
47. - Levin, R. J. (1969) The effects of hormones on the absorptive, metabolic and digestive functions of the small intestine. *J. Endocr.* 45: 315-348.
48. - Levin, R. J. (1974) In: Syme, G. and Levin, R. *Proc. R. Soc. Cond. B.* 194: 121.
49. - Lowry, O. H. Rosebrough, N., Farr, A. L. & Randal, R. L. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
50. - Maenz, D. & Cheeseman, C. (1986) Effect of hyperglycemia on D-Glucose transport across the brush-border and basolateral membrane of rat small intestine. *Biochimica et Biophysica Acta.* 860: 227-285.
51. - Matz, G. (1984) La reproduction des reptiles et les facteurs son induction. *Acta Zoologica et Pathologica* 1(78): 33-68.
52. - Mautz, W. J. & Nagy, K. A. (1987) Ontogenetic changes in diet, field metabolic rate, and water flux in the herbivorous lizard *Dipsosaurus dorsalis*. *Physiol. Zool.* 60(6): 640-658.

53. - Mayhaw & Weintraub (1971) Thermal ecology in: Reptile ecology p. 45. University of Queensland Press.
54. - McGinnis (1966) Thermal ecology in: Reptile ecology p. 45. University of Queensland Press.
55. - Menaker, M. & Wisner, S. (1983) Temperature compensated circadian clock in the pineal of *Anolis*. Proc. Natl. Sci. 80: 6119-6121.
56. - Miller (1959) The thyroid. In: Biology of the reptilia. 3: 219. Academic Press, London, New York.
57. - Moog, F. (1981) The lining of the small intestine. Sci. Amer. 116-125.
58. - Murer, H. & Kinne, R. (1980) The use of isolated membrane vesicles to study epithelial transport process. J. Membr. Biol. 55: 81-95.
59. - Nagy, K.C. (1977) Cellulose digestion and nutrient assimilation in *Sauromalus obesus*, a plant eating lizard. Copeia 2.
60. - Nisa Dadri, M; Zain, B; Zain-Ul-Abedin, M. (1970) Intestinal transport of aminoacid in a lizard during hibernation and activity. Comp. Biochem. Physiol Vol 36. pp 569-577.
61. - Ortiz, J.C. (1975) Una nueva especie de lagartija chilena, *Liolaemus donoso* sp. nov. (Squamata-Iguaniidae). An. Mus. Hist. Nat. Valparaiso 8: 62-65.
62. - Ortiz, J.C. y Riveros, G.M. (1976) Hábitos alimenticios de *Liolaemus nigromaculatus* (Kuhlmani, Muller y Hellmich). An. Mus. Hist. Nat. Valparaiso. 9: 131-140.

63. - Penzes, L. (1980) Intestinal absorption in the aged. *Acta Med. Hung.* 37: 203-210.
64. - Pianka (1971) Thermal ecology. In: *Reptile ecology* p. 45. University of Queensland Press.
65. - Pough, F.G. (1973) Lizard energetics and diet. *Ecology* 54: 837-844.
66. - Potter, G.D., Schmidt, K.L., Lester, R. & Schultz, S.G. (1982) Cellulose absorption by in vitro perfused ileum of the fetal rat. *Am. J. Physiol.* 242: 6642-6649.
67. - Potter, G.D., Schmidt, K.L. & Lester, R. (1983) Glucose absorption by in vitro perfused colon of the fetal rat. *Am. J. Physiol.* 245: 6424-6430.
68. - Prosser, L. & Brown, F. (1968) *Fisiologia comparada.* pp 416-424. W.P. Saunders Company. Philadelphia.
69. - Read, C (1967) In: Vinardel, M. (1990) Mutual inhibition of sugars and aminoacid intestinal absorption. *Comp. Biochem. and Physiol.* Vol 95A. N°1.
70. - Reiter, R. (1987) The melatonin message: duration versus coincidence hypotheses. *Life Sciences* 40: 2119-2131.
71. - Rossier, B., Geering, K. & Kraehenbuhl, J. (1987) (DEC) Regulation of the sodium pump: How and why?. *TIBS* 12.
72. - Saint Girons (1963) The Thyroid. In: *Biology of the Reptilia.* 3: 218. Ac. Press, London, N.Y.
73. - Schultz, S.G. & Curran, P.F. (1970) Coupled transport of sodium and organic solutes. *Physiol. Rev.* 50: 637-718.
74. - Segal, J. & Ingbar, S.H. (1990) 3,5,3'-Triiodothyronine enhances sugar transport in rat thymocytes by

- increasing the intrinsic activity of the plasma membrane sugar transporter. *Journal of Endocrinology* 124: 133-140.
75. - Sibly, R. M. (1981) In; Zimmerman, L; Tracy, C (1988). Interactions between the environment and ectothermy and herbivory in reptiles. *Physiological Zoology*. 62 (2): 374-409.
76. - Sokal, R. & Rohlf, F. J. (1982) *Biometría*. H. Blume Ediciones.
77. - Somogi-Nelson (1954) En: *Prácticos de Laboratorio*. Facultad de Medicina. Depto. de Bioquímica. Sección Publicaciones 153-154 (1978).
78. - Stevens, B., Kaunitz, J. & Wright, M. (1984) Intestinal transport of aminoacids and sugars: Advances using membrane vesicles. *Ann. Rev. Physiol.* 46: 417-433.
79. - Syme, G. & Levin, R. (1976) Effect of altered thyroid status induced by thyroid hormones, goitrogens and diet on intestinal electrogenic valine transfer. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 194: 121-139.
80. - Tepparman, J. (1969) *Metabolic and Endocrine Physiology*. pp 416-424. W. P. Saunders Company. Phyladelphia.
81. - Troyer, K. (1984) Structure and function of the digestive tract of a herbivorous lizard *Iguana iguana*. *Physiol. Zool.* 57(1): 1-8.
82. - Underwood, H (1986) Light at night cannot suppress pineal melatonin levels in the lizard *Anolis carolinensis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 84A(4): 661-663.

83. - Valencia, J. (1975) Preferencias de temperatura y comportamiento de dos lagartijas del género *Liolaemus* en un gradiente fototérmico. Res. Com. XVIII Reunión Anual Soc. Biol. Chile.
84. - Valencia, J. & Jaksic, F.M. (1981) Relations between activity temperature and preferred temperature of *Liolaemus nitidus* in central Chile (Lacertidia: Iguanidae). *Studies on neotropical fauna and environment* 16: 165-167.
85. - Veloso, A. & Navarro, J. (1988) Lista sistemática y distribución geográfica de anfibios y reptiles de Chile. *Boll. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino*. Vol 6, N°2.
86. - Vinardell, P. & Bolufer, J. (1984) Age dependent changes on jejunal sugar absorption by rat in vivo. *Experimental gerontology*. 19: 73-78.
87. - Vinardell, M.P. (1990) Mutual inhibition of sugars and amino-acid intestinal absorption. *Comp. Biochem. and Physiol.* Vol 95A, N°1.
88. - Voitkewitsch (1944) The Thyroid. In: *Biology of the Reptilia*. Vol 3 pp .Academic Press, London, N.Y.
89. - Voorcheez, M.E. (1981) Digestive efficiency of *Sauromalus varius* In: Zimmerman, L (1989). *Interactions between the environment and ectothermy and herbivory in reptiles*. *Physiological Zoology* 62(2): 374-409.

90. - Waldschmidt, S. R., S. M. Jones & W. P. Porter (1986) The effect of body temperature and feeding regime on activity, passage time and digestive coefficient in the lizard. *Uta Stansburiana*. *Physiol. Zool.* 59: 376-383.
91. - Wilson, T. H. & Wiseman, G. (1954) The use of sacs of everted small intestine for the study of transference on substances from the mucosal to the serosal surface. *J. Physiol.* 123: 116-125.
92. - Wilhofts (1963) *The Thyroid In: Biology of the Reptilia*. Vol 3. Academic Press, London, N. Y.
93. - Young, J. Z. (1986) *La vida de los vertebrados*. Editorial Omega. pp 310-356.
94. - Zimmerman, L; Tracy, C. (1989) Interactions between the environment and ectothermy and herbivory in reptiles. *Physiological Zoology* 62(2): 374-409.
95. - Ziswiler, V. (1978) *Zoología especial, Vertebrados Tomo II*. Editorial Omega.
96. - Zunino, S. & Riveros, G. (1981) Distribución de reptiles y su relación con la vegetación en "Parque Nacional La Campana", Chile central. *An. Mus. Hist. Valparaíso*. 14: 185-188.