

INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACION PROLONGADA DE OESTRONA SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DEL HUESO

POR EL

Dr. Berardo A. Mácola

Trabajo realizado en el Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba (R. Argentina)

INTRODUCCION Y LITERATURA

Desde hace muchísimo tiempo se conocen datos que indican una gran vinculación entre el funcionamiento ovárico y el metabolismo del calcio. Es de observación corriente el hecho de que la arquitectura del esqueleto sufre modificaciones características en los animales y aún personas castradas en épocas tempranas de la vida. En los animales castrados de ambos sexos tiende a producirse un crecimiento exagerado, especialmente de los huesos largos, debido a una soldadura tardía de la zona diafiso-epifisaria. Aún en patología humana, los médicos desde muy temprano, encontraron correlaciones evidentes entre el funcionamiento genital y el metabolismo del calcio. Hace ya alrededor de cincuenta años que Fehling consiguió mejorar la osteomalacia mediante la castración. Es también un conocimiento clásico el de que el celo y la preñez son condiciones que favorecen y aun pueden provocar los accesos de tetania.

No es raro, por consiguiente, que algunos investigadores ha-

yan tratado de profundizar nuestros conocimientos acerca de las relaciones que existen entre el funcionamiento génital y el metabolismo del calcio. En este sentido han recibido particular atención en contenido en calcio de la sangre, y la composición química de los huesos, habiendo recibido consideración más detenida las variaciones de la calcemia provocadas por ovariectomía o inyecciones de extractos. La literatura referente a las variaciones de la calcemia en sus relaciones con las hormonas sexuales puede consultarse en el artículo de Marlow y Koch (1937). Los datos que hemos podido encontrar referentes a la influencia de las hormonas sexuales sobre la composición de los huesos son relativamente escasos. Dogliotti (1934) encontró una disminución no muy significativa de las cenizas en los huesos de conejas castradas. Recientemente Bach (1937) comunica haber encontrado un empobrecimiento de calcio en todos los órganos, con excepción de la sangre, en ratas tratadas con oestrone; la disminución del calcio era más marcada en los músculos luego en la piel y huesos y menos en el hígado. En la sangre había un notable aumento en el nivel del calcio. Este autor no menciona si el calcio de los huesos está disminuído en relación al hueso seco total o las cenizas.

ANIMALES Y METODOS

Se dispusieron de 23 ratas blancas divididas en dos lotes. De éstas a 17 se les administró oestrone, entre 12 y 40 unidades internacionales diarias por animal, en inyección subcutánea (vehículo oleoso). La hormona, salvo una pequeña cantidad que fué extraída de este Instituto a partir de la orina de embarazada, según el procedimiento de Zondek (1935), nos fué gentilmente suministrada por el Dr. Deulofeu, del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene. Al iniciarse el tratamiento el peso de las ratas oscilaba entre 15 y 90 gramos; el tratamiento se prolongó por espacio de dos o tres meses, vigilando que las ratas hembras estuvieran constantemente en estado de celo, condición que se diagnosticaba por el examen de frotis vaginales efec-

tuados diariamente. Los animales testigos recibían únicamente igual cantidad del vehículo oleoso.

Finalizado el período de tratamiento, el animal se sacrificaba y se extraía el fémur derecho para su análisis químico. No se excluyó la médula ósea ni se desengrasaron por el éter.

La humedad se investigó colocando el hueso en horno a 110° durante dos horas, previo fraccionamiento en partículas pequeñas. Las cenizas se obtuvieron calcinando en una cápsula de platino el excedente de hueso una vez separada la fracción destinada al análisis del fósforo inorgánico. La materia orgánica se deducía por la diferencia entre el peso del hueso seco utilizado y el de las cenizas obtenidas. El calcio se dosó según el procedimiento de Lemoine con la modificación Halverson - Bergeim; el fósforo inorgánico y total se valoraron según Malot y Pincus con las sales de uranilo, y el magnesio colorimétricamente según la técnica de Bell, Doisy y Briggs.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los cuadros adjuntos muestran los resultados obtenidos individualmente, los términos medios para los distintos datos investigados, y el análisis y ponderación estadística de los mismos. En general nuestras cifras coinciden con las halladas por otros investigadores para animales de especies diversas (Morgulis, 1922).

Debe hacerse notar que el calcio, el magnesio y el fósforo inorgánico fueron dosados en hueso seco, mientras que el fósforo total lo fué sobre las cenizas.

Los cuadros I y II muestran los resultados individuales y los términos medios de los valores encontrados en las ratas inyectadas y testigos, refiriendo los valores a cien gramos el hueso seco. El cuadro III facilita la comparación de los términos medios en las ratas tratadas y testigos, indicando las diferencias y su error probable para justificar su significación. Se vé así cómo la única

REANCO 25 N° 1 - JULIO A GO 1935
(Huesos desecados a 110°.)

Caso N°.	Humedad	Gr. 100 de hueso seco contienen gramos:					
		Mat. Org.	Cenizas	Calcio	Magnesio	Fósforo I.	Fósforo T.
1	11,6331	38,6348	61,3652	22,0000	0,1764	10,8037	9,1144
2	11,3611	37,6587	62,3413	23,6000	0,2469	10,3151	9,5510
3	11,2877	38,4154	61,5846	24,5625	0,4480	10,6102	9,6192
4	11,6813	38,9169	61,0831	23,2000	0,2958	9,4575	9,2235
5	—	36,8020	63,1980	24,9000	0,2523	9,9736	9,1690
6	11,7256	39,2014	60,7986	24,2500	0,2066	9,1623	9,0052
7	12,5140	40,4796	59,5204	22,7000	0,3864	9,9159	8,6232
8	12,4265	38,1889	61,8110	23,7000	0,3065	11,7105	8,6232
9	11,9570	36,8532	63,1468	24,4000	0,3404	9,2211	9,1144
10	12,0635	46,9096	53,0904	24,2000	0,2333	8,6494	8,2549
11	12,5284	38,5555	61,4445	22,4000	0,2542	9,0053	8,6232
12	11,7647	41,0832	58,9168	22,3500	0,3870	11,5355	8,5141
13	11,1737	41,6497	58,3503	21,7500	0,4733	8,2255	8,0229
14	11,1317	45,9610	54,0390	21,3125	0,4405	8,2044	7,8455
15	11,0393	44,6250	55,3550	23,5000	0,2967	8,5959	—
16	11,2174	—	—	22,7857	0,3603	10,2143	8,3230
17	11,0449	33,9063	66,0937	—	0,4842	9,2099	8,2645
Término medio	11,6594	39,8650	60,1349	23,2256	0,3288	9,6950	8,6772
Error probable	± 0,0906	± 0,6079	± 0,5893	± 0,1872	± 0,0162	± 0,1800	± 0,0087
Desviación standard	± 0,5190	± 3,4909	± 3,3842	± 1,0749	± 0,0961	± 1,0675	± 0,5197



diferencia significativa es la que se refiere a la humedad, valor de importancia muy relativa, supeditado en gran parte a las condiciones higrométricas del ambiente. Se vé además, como aunque sin ser estrictamente significativas hay diferencias apreciables en lo que se refiere especialmente al fósforo total, que se encuentra disminuído en los animales tratados; la diferencia con respecto a los testigos, llega a ser unas 2,64 veces mayor que su error probable, faltándole muy poco por consiguiente para llegar al triple, con lo cual hubiese sido estrictamente significativa desde el punto de vista estadístico.

Los cuadros IV, V y VI muestran los valores encontrados referidos a cien gramos de cenizas.

El cotejo de los términos medios, facilitados por el cuadro V, muestra que las únicas diferencias significativas cuando los valores hallados son referidos a cenizas son los concernientes al fósforo total e inorgánico, los cuales se encuentran apreciablemente disminuídos. La diferencia entre los términos medios sobrepasan con creces el triple de su propio error probable.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El análisis químico de fémures de ratas inyectadas durante dos o tres meses con oestrón (12 a 40 unidades internacionales diarias en aceite) demostró que existe en ellos una significativa disminución del fósforo inorgánico y total, con respecto a los fémures de ratas testigos inyectadas únicamente con el vehículo oleoso durante el mismo período de tiempo.

Nota: Este trabajo se realizó por sugestión del Director del Instituto, Prof. Dr. Oscar Orías.

CUADRO II

R A T A S T E S T I G O S
(Huesos desecados a 110°.)

Caso N°.	Humedad	Gr. 100 de hueso seco contienen gramos:					
		Mat. Org.	Cenizas	Calcio	Magnesio	Fósforo T.	Fósforo I.
1	9,9288	39,8125	60,9816	22,7500	0,4137	9,5092	9,5510
2	10,2454	44,3841	57,6159	22,2000	0,1920	10,1920	9,6602
3	10,1638	38,4615	61,5385	24,5500	0,3498	10,8561	10,1514
4	11,0211	45,8990	54,1010	21,0500	0,1434	9,8997	7,7505
5	10,8683	40,5940	57,4257	21,1000	0,3045	11,9962	8,6573
6	11,2422	44,1667	55,8334	21,2867	0,2714	10,8245	8,6573
Término medio	10,5782	41,8863	58,1137	22,1561	0,2825	10,5464	9,0109
Error probable	± 0,1610	± 0,8451	± 0,8740	± 0,4087	± 0,0285	± 0,2662	± 0,2778
Desviación standard	± 0,5389	± 2,8017	± 2,8975	± 1,3549	± 0,0945	± 0,8825	± 0,9209

CUADRO III

COTEJO DE LOS TERMINOS MEDIOS Y PONDERACION DE SUS
DIFERENCIAS

Valores investi- gados	Términos medios		Diferencias y su error probable	Significación de diferencia
	Testigos	Tratadas		
Humedad	10,5782	11,6594	1,0812 \pm 0,1850	5,84 (sí)
Mat. orgánica	41,8863	39,8650	2,0213 \pm 1,0410	1,94 (no)
Cenizas	58,1137	60,1349	2,0212 \pm 1,0541	1,91 (no)
Calcio	22,1561	23,2256	1,0695 \pm 0,4495	2,37 (no)
Magnesio	0,2825	0,3288	0,0463 \pm 0,0327	1,41 (no)
Fósforo total	10,5464	9,6950	0,8514 \pm 0,3213	2,64 (no)
Fósforo inorg.	9,0109	8,6772	0,3337 \pm 0,2780	1,20 (no)

CUADRO IV

RATAS INYECTADAS

Caso No.	Gr. 100 de cenizas contienen gramos:			
	Fósforo T.	Fósforo I.	Calcio	Magnesio
1	17,6055	14,8527	35,8509	0,2875
2	16,5461	15,3205	37,8561	0,3960
3	17,2236	15,6194	39,8841	0,7274
4	15,4830	15,0999	37,9810	0,4843
5	15,7815	14,5083	39,3999	0,3993
6	15,0699	14,8115	39,8857	0,3399
7	16,6596	14,4878	38,1381	0,6491
8	—	13,9509	38,3426	0,4958
9	14,6026	14,4336	38,6401	0,5390
10	16,2918	15,5487	—	0,4395
11	14,6559	14,0341	36,4556	0,4137
12	—	14,4510	37,9348	0,6582
13	14,0967	13,7495	37,2749	0,8112
14	15,1916	14,5182	39,4391	0,8151
15	15,5230	14,3217	—	0,5358
16	14,7034	—	—	0,5187
17	13,9346	—	—	0,7326
Término medio	15,5582	14,7471	38,2371	0,5437
Error probable	± 0,1997	± 0,1008	± 0,2418	± 0,0261
Desviación standard	± 1,1081	± 0,5594	± 1,2418	± 0,1552

CUADRO V

R A T A S T E S T I G O S

Caso N°.	Gr. 100 de cenizas contienen gramos:			
	Fósforo T.	Fósforo I.	Calcio	Magnesio
1	—	15,6621	37,3063	0,6784
2	17,6906	16,7665	38,5310	0,3333
3	17,6411	16,4960	39,8937	0,5684
4	18,2985	14,3250	38,9087	0,3029
5	20,1935	14,4459	36,7431	0,5126
6	19,3871	15,5055	38,1253	0,4861
Término medio	18,6421	15,5335	38,2513	0,4801
Error probable	$\pm 0,3865$	$\pm 0,1088$	$\pm 0,2410$	$\pm 0,0429$
Desviación standard	$\pm 1,1166$	$\pm 1,1614$	$\pm 1,1306$	$\pm 0,1424$

CUADRO VI

COTEJO DE LOS TERMINOS MEDIOS Y PONDERACION DE SUS DIFERENCIAS

Valores investigados	Términos medios		Diferencias y su error probable	Significación de diferencia
	Testigos	Tratadas		
Fósforo total	18,6421	15,5582	3,0839 $\pm 0,4350$	7,09 (sí)
Fósforo inorg.	15,5335	14,6471	0,8864 $\pm 0,2537$	2,43 (no)
Calcio	38,2513	38,2371	0,0142 $\pm 0,3414$	0,04 (no)
Magnesio	0,4801	0,5437	0,0636 $\pm 0,0502$	1,26 (no)

BIBLIOGRAFIA

- Bach, E. — Follikelhormon und Kalkstoffwechsel. — *Klin. Wschr.* 1937, 16, 280.
- Bell, Doisy. — Rapid colorimetric method for the determination of phosphorus in urine and blood. — *Journ. Biol. Chem.*, 1920, 44, 55; in Peters and van Slyke, *Quantitative Clinical Chemistry*, T. II, p. 855, 1932.
- Briggs, A. P. — A modification of the Bell, Doisy phosphate method. — *Journ. Biol. Chem.*, 1922, 53, 13; 1924, 59, 255.
- Dogliotti, V. — Effetto della castrazione sul calcio delle ossa. — *Ann. Ostetr.*, 1934, 56, 443. — Consultado en *Berichte u. ges. Physiologie*.
- Engelbach, W. and Mc Mahon, A. — Osseous development in endocrine disorders. — *Endocrinology*, 1924, 8, 1. — Consultado en *Berichte u. ges. Physiologie*.
- Halverson, Bergeim. — (Lavado del pp. de oxalato de calcio) in Peters and van Slyke, *Quantitative Clinical Chemistry*, 1932; T. II, p. 771, Ed. Williams and Wilkins Ca.
- Lemoine. — (Precipitación del calcio bajo forma de oxalato) in Dénigés, *Precis de Chimie Analytique*, 1920, p. 531. Ed. Maloine et Fils.
- Malot, C. — Maasanalytische Bestimmung der Phosphorsäure durch Uraniumnitrat, *Chem. Centr.*, 1887, 18, 873, in Peters and van Slyke, *Quant. Clin. Chem.*, 1932, T. II, p. 850-861.
- Marlow, H. W., and Koch, F. C. — The effect of sex hormones on blood calcium and inorganic blood-phosphate levels. — *Endocrinology*, 1937, 21, 72.
- Morgulis, S. — A comparative study of the composition of the femur. — *Jour. Biol. Chem.*, 1922, 50, p. 51-52.
- Pincus. — Maasanalytische Bestimmung der Phosphorsäure durch essigsaures Uranoxid. *Virchow's Arch.*, 1859, 16, 137, in Peters and van Slyke, *Quant. Clin. Chem.*, 1932, T. II, p. 850-861.
- Zondek, B. — Die Hormone des Ovariums des Hypophysenvorderlappens. — *J. Springer, Wien*, 1935, p. 81.
-