

CALCIFICACION, NECROSIS Y ATROFIA DE ORGANOS NORMALES MEDIANTE TECNICAS DE CALCIFICACION (*)

Hugo O. De Carli (1) y Alcides A. Martín (2)

RESUMEN

Se empleó una técnica de calcificación de órganos mediante inyecciones con permanganato de potasio, con o sin administración previa de dihidrotaquisterol.

El tejido calcificado pasa posteriormente a tejido fibroso cicatricial.

Se obtuvo éxito en piel de ratón, ovario de perra y testículos de ratón y perro.

CALCIFICATION, NECROSIS AND ATROPHY OF NORMAL TISSUES BY CALCIFICATION TECHNIQUES

SUMMARY

Injections of potassium permanganate, with or without prior administration of dihydrotachysterol, were used to produce calcification.

After the calcification were induced the tissues undergoing to repair process of fibrosis.

Calcification was produced in the skin of white mice, in the canine ovary and mouse testicle.

ANTECEDENTES

El empleo de técnicas de Calcifilaxia, extensamente estudiadas en trabajos anteriores sobre tumores (1, 2), sugieren la posibilidad de calcificar órganos con la finalidad de eliminarlos como entes funcionantes, lo que se podría traducir eventualmente en castraciones o como tratamiento complementario a técnicas quirúrgicas. De todos modos es un método que produce una intensa calcificación y necrosis y conduce luego a que un tejido cualquiera, en un lapso de un mes a mes y medio, sea reemplazado por otro tejido conjuntivo cicatrizal, abriendo posibilidades de interés por sus futuras aplicacio-

nes. Además según consta en la citada bibliografía, esta técnica podría influir favorablemente en el tratamiento de diversos tumores.

De todas las variantes que presentan las técnicas estudiadas por H. Selye (3), se prefirió la Calcifilaxia Directa con permanganato de potasio, y, en algunos casos, reforzando su acción mediante administración previa de dihidrotaquisterol cuya acción farmacológica consiste en elevar la tasa del calcio sanguíneo. Su dosis fue previamente estudiada para evitar compromisos renales o de otra naturaleza.

(*) Trabajo presentado para su publicación el 20-10-69.

(1) Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Química Biológica, part-time Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

(2) Profesor Adjunto full-time, Instituto de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

MATERIAL Y METODO

Se emplearon soluciones de permanganato de potasio al 0,5 %, salvo en la experiencia con carneros donde la concentración fue del 1 %.

En los casos en que se empleó dihidrotaquisterol (Philips - Duphar, Holanda), se lo usó en una dilución

de aceite común de girasol al 800 mg. %, en dosis de 2 mg. / Kg. administrado por boca el día anterior.

El método utilizado consistió en inyectar la sal en el órgano a tratar, de modo de que ésta alcance la totalidad del mismo.

RESULTADOS

a. *Experiencias sobre piel de abdomen de ratones.*

En cuatro ratones blancos se inyectó intradérmicamente aproximadamente 0,05 ml. de permanganato de potasio 0,5 %. Durante los primeros días se observó una mancha color marrón de 7 mm. de diámetro, tomando a la semana color negro y aspecto aparentemente necrosado. En uno de los animales tratados se desprendió la piel en forma de disco.

El corte histológico reveló tejido necrótico, con pocos elementos inflamatorios, y en distintos lugares, acúmulos de calcio en forma grosera y dispersados irregularmente de aproximadamente 40 micras de diámetro y acúmulos alargados de 200 micras aproximadamente. En la capa córnea la calcificación se presenta en forma de láminas. Los otros animales curaron de la lesión necrótica, reemplazando el tejido afectado con tejido conjuntivo.

b. *Experiencia en glándula mamaria normal y tumor de mama de perros.*

Se efectuó una experiencia preliminar en una perra sana.

El primer día se administró dihidrotaquisterol 2 mg. / Kg., al 2º día permanganato de potasio 0,5 % en una mama, al 8º día se observó una zona de 3 x 4 cm., con evidentes signos inflamatorios, necrosada en su centro y de bordes eritematosos, al 12 día presentaba una úlcera abierta de 11 mm., al 16 día se repitió el tratamiento administrando la misma cantidad de dihidrotaquisterol y permanganato de potasio, al 20 día la zona estaba inflamada alcanzando un tamaño de 12 x 16 mm., pero la

boca ulcerosa había cerrado completamente. A los 45 días se observaba una pequeña dureza de 1 cm. aproximadamente, desapareciendo todo rastro una semana más tarde, quedando solamente una pequeña cicatriz.

Otra observación de interés se efectuó en un tumor de mama de 6 x 7 cms., ulcerado, con una boca de 2 x 2 cms. en una perra de 20 años; la ulceración desprendía continuamente un líquido amarillento maloliente. Efectuado el tratamiento con dihidrotaquisterol, permanganato de potasio, luego de una inflamación localizada alrededor de la zona tumoral, cerró completamente a los 12 días.

En un trabajo posterior se detallará las remisiones logradas en adenocarcinoma de mama de perro.

c. *Experiencia en ovario de perra.*

Se efectuó la calcificación de un ovario de perra, previa administración de dihidrotaquisterol (2 mg./Kg), 24 hs. antes, mediante laparatomía e inyección de aproximadamente 1 cc de permanganato de potasio en varios puntos de la masa tisular ovárica. Se observó a los 6 días comprobando que el ovario tratado se encontraba sumamente inflamado siendo su tamaño el doble del testigo.

Posteriormente, en las mismas condiciones que la experiencia anterior, efectuamos el citado tratamiento a una perra con la finalidad de observar la calcificación de su ovario pasado un mes. A los 34 días se efectuó la laparatomía encontrando un grueso acúmulo de calcio de 6 x 6 mm que ocupaba todo el interior del ovario, de tal modo que el bisturí difícilmente pudo cortarlo. La cápsula

estaba también intensamente calcificada. El estudio anatómopatológico muestra numerosos folículos calcificados y otros atrésicos, no calcificados, además arterias no calcificadas.

d) *Experiencias en riñones de perro.*

Se efectuaron seis ensayos de calcificación de riñón.

En el primero se efectuó laparotomía ventral, no logrando por esta vía un buen acceso a ambas caras del riñón. Luego se ensayó 1 operación por el flanco en las proximidades de las últimas costillas, obteniendo perfecto acceso a ambas caras. Se inoculó, previo dihidrotaquisterol, el permanganato de potasio en ocho o diez puntos del parénquima renal mediante aguja fina empleando un total de 6 cc.

Se observó, luego de un período de 20 días que la calcificación estaba circunscripta a los puntos donde se había inoculado el permanganato, tomando la forma de nódulos calcificados de 5 mm de diámetro. La cápsula renal se había calcificado completamente. El resto del parénquima renal se encontraba aparentemente en buenas condiciones de funcionamiento.

Los últimos ensayos se efectuaron introduciendo el permanganato de potasio por vía arteria renal manteniendo la salida venosa cerrada durante 20 minutos.

Ninguna de estas técnicas dio resultado y esto se atribuye a la gran vascularización del órgano.

e) *Experiencias en testículos de ratones.*

Se efectuaron numerosas experiencias de calcificación de testículo de ratón mediante el permanganato de potasio solo y con adición previa de dihidrotaquisterol 24 hs antes.

Luego de realizada la incisión de la bolsa testicular, se inyectó un testículo con 0,2 cc de la sal, suturando luego. En algunos casos se repitió la operación en el otro testículo.

Cuando fue tratado un solo testículo se observó que al mes, éste había disminuido de tamaño en un tercio con respecto al sin tratar, con evi-

dente aspecto atrófico. En observaciones posteriores que abarcaron períodos de 4 a 6 meses se pudo constatar que el testículo tratado disminuyó en tres cuartas partes su tamaño con respecto al testículo testigo. En las experiencias efectuadas calcificando ambos testículos observamos que la disminución de tamaño a los cinco meses era muy superior pasando su tamaño de 9 x 5 mm a 2 x 1 mm. En algunos casos se observó que las sículas seminales estaban hinchadas, posiblemente por haberse obturado los conductos deferentes por los procesos inflamatorios.

El estudio histológico demostró que el epidídimo tenía el epitelio engrosado y descamado, conservando algunos caracteres morfológicos normales. El testículo no presentaba morfología alguna, estando intensamente calcificado y su estructura reemplazada por tejido conectivo, en algunas zonas por tejido graso y un sustrato hialino amorfo. No había espermatozoides y se observaron gómulas hialinas con restos de cromatina correspondiente a distintos estados evolutivos de espermatozoides. La vesícula seminal correspondiente al testículo tratado contenía gran cantidad de líquido seminal denso con células de descamación sin espermatozoides.

f) *Experiencias con testículos de perro.*

Efectuamos el tratamiento con dihidrotaquisterol-permanganato de potasio en ambos testículos de un perro de 8 kg. A los 6 días, luego de un período de intensa inflamación se observó un testículo ulcerado. A los tres meses se castra observando que el tamaño ha disminuido en ambos a 1/3 de lo normal, presentando adherencias en el escroto.

Estudio histológico: El testículo necrosado presenta reacción inflamatoria desaparición del tejido testicular, escasos focos de calcificación diseminados, predominio de tejido conjuntivo, hemosiderosis observándose algunos túbulos seminíferos fuera de la zona de necrosis con células germinativas de protoplasma espumoso y

células de Sertoli conservadas como asimismo células de Leydin. Un tubo seminífero contenía en uno de sus cortes restos de espermatozoides.

El testículo no necrosado mostraba un aspecto análogo al anterior. Se observaron numerosas células de Leydin, aunque todas las células de la capa germinativa desaparecieron. La luz de los túbulos seminíferos está conservada. Epidídimo normal.

g) *Experiencias con testículos de carneros.*

Empleamos cuatro carneros de edades que variaban entre los 6 meses y los 14 meses, con pesos entre 23 y 45 Kg. Se les inyectó 10 cc de permanganato de potasio 1 % en cuatro inyecciones en cada testículo sin administración previa de dihidrotaquisterol.

Los testículos, luego de un ligero aumento de tamaño la primer semana conservaron su primitiva medida durante 6 meses a pesar del aumento general de talla.

La electroeyaculación efectuada a los 100 días dio muy escaso volumen observándose numerosos espermatozoides muertos.

Macroscópicamente se observaron zonas necrosadas circunscriptas a los lugares de inyección, salvo un caso en que el proceso de calcificación abarcó la mayor parte del tejido noble.

h) *Experiencias sobre cuernos de útero de ratones.*

A 30 ratones blancos hembras jóvenes y de probada fertilidad, se les inoculó por vía vaginal, y con ligera presión permanganato de potasio, habiéndose comprobado en experiencias anteriores mediante laparatomía, que el líquido remontaba fácilmente las trompas. Luego de diez días se pusieron en cría con la misma cantidad de machos.

El período de observación abarcó más de cuatro meses.

Se obtuvo esterilidad en un 66 %.

DISCUSION

Las características de los métodos de calcificación, ya sea con permanganato de potasio solo o previo dihidrotaquisterol, son tales que producen un extraordinario cambio en la composición química de los tejidos. Según las investigaciones de Boros Farkas y colaboradores (4), la piel calcificada aumenta a los 14 días su contenido de calcio en 260 veces e incrementa el fósforo en 19 veces, además el colágeno pasa de 54 a 18,7 por ciento. La magnitud de la injuria hace que el tejido pierda sus características morfológicas y se convierta, luego de este período intensamente inflamatorio, en tejido conjuntivo aproximadamente al mes o mes y medio de efectuado el tratamiento.

De las experiencias realizadas consideramos satisfactorias las efectuadas en piel de abdomen de ratón, en glándula mamaria de perra normal y con tumor, y en ovario de perra.

No lograron su objetivo las numerosas experiencias sobre calcificación del riñón canino. A las razones expuestas precedentemente, debemos agregar que el permanganato, oxidante de acción inmediata agota su capacidad sobre la sangre en un órgano tan vascularizado sin dañar mayormente al parénquima. Prueba de ello es que bajo la cápsula renal la droga tuvo tiempo y adecuada concentración para actuar y lo hizo intensamente.

Las experiencias con testículo de ratón fueron las más concluyentes, logrando la casi desaparición del órgano y su total eliminación como ente funcionante. Fueron buenos los resultados en testículo de perro.

Las experiencias sobre carneros, efectuadas con miras a una evidente utilidad práctica (a ello se debe que no se usó dihidrotaquisterol), dio resultados relativamente satisfactorios,

considerando que se obtuvo necrosis parcial y un espermograma de valores sumamente bajos. Un incremento en la dosis y en la concentración permitiría mejorar sustancialmente los resultados.

Fueron muy distintas las condiciones usadas en la experiencia en cuernos uterinos de ratón ya que se trató de un simple pasaje de la droga por los epitelios en lugar de las inyecciones habituales, de modo que los resultados son dignos de mención.

CONCLUSIONES

Las técnicas de calcificación empleadas en órganos de mediana irrigación producen la total conjuntivi-

zación de los mismos y constituyen un medio idóneo para eliminarlos como entes funcionantes.

BIBLIOGRAFIA

1. *De Carli, H.; Martin, A.*: Acción del calcio, dihidrotaquisterol y calcifilaxia por liberadores de histamina (polimixina) sobre el Sarcoma 180. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)*, 48, 4, 313, 1967.
2. *De Carli, H.; Martin, A.*: Necrosis y caída de tumores espontáneos y trasplantados mediante técnicas de calcificación. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)*, 48, 4, 305, 1967.
3. *Selye, H.*: *Calciphylaxis*. University of Chicago Press. 1962.
4. *Boros - Farkas, M.; Von Hahn, H. P. y Verzar, F.*: Calcification of rat skin induced by dihidrotachysterol. *Gerontología*, 13, 136-43, 1967.

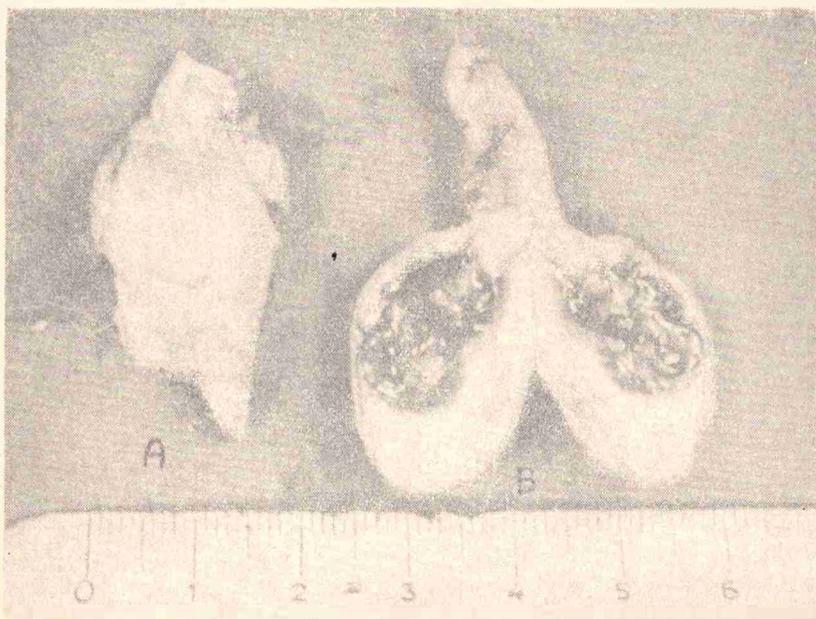


Foto Nº 1: Testículo de perro.

A: Atrofia testicular.

B: Atrofia testicular con necrosis secundaria por ulceración.



Foto Nº 2: Corte de testículo de perro.

A: Túbulos seminíferos con depósitos de sales de calcio.

B: Tejido conectivo.

C: Túbulos seminíferos atróficos.