Miércoles
17 de junio de
1970 a las 18:00 hs.

EXAMENES
PROFESIONALES

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

ACCION DE LOS ESTROGENOS SOBRE LA DIABETES INDUCIDA POR ALOXANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA:

GRISELDA R. SILVA LEAL

- 1970 -

PRESIDENTE	Prof. FRANCISCO GIRAL GONZALEZ
VOCAL	Prof. JUAN JOSE MANDOKI W.
SECRETARIO	Prof. Ma. SOCORRO SALAS TAVARES
1er. SUPLENTE	Prof. Ma. LUISA GARCIA PADILLA
2o. SUPLENTE	Prof. YETA SHADERMAN

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA.
U. N. A. M.

ASESOR DEL TEMA	Dr. JUAN JOSE MANDOKI W.
SUPERVISOR TECNICO	Dr. JORGE PEON DOMINGUEZ.
SUSTENTANTE	Griselda R. Silva Leal.

A MIS PADRES

Con gratitud.

A MIS FAMILIARES

Con cariño.

A MIS MAESTROS:

Por su valiosa ayuda.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS.

A MI FACULTAD.

I N D I C E

I. INTRODUCCION

II. METODO Y MATERIAL

III. RESULTADOS

IV. DISCUSION Y CONCLUSIONES

V. APENDICE

VI. REFERENCIAS

INTRODUCCION

La diabetes mellitus es uno de los padecimientos conocidos desde hace más tiempo. Se tienen datos de los síntomas de esta enfermedad, desde - 500 años antes de la era moderna. (Areteo).

Estadísticas de morbilidad actuales indican un incremento en la - incidencia del padecimiento. Su cronicidad y la gravedad de las secuelas que- produce, contribuyen al aumento continuo en su importancia.

A partir del descubrimiento de la insulina por Banting (1922), se- inicia el tratamiento de diabetes con esta hormona, que permitió mantener a los diabéticos en condiciones relativamente buenas, durante muchas décadas. Más- recientemente, la introducción de las sulfonilureas y las biguanidas en la tera-- peútica del diabético, amplió los recursos mediante estos agentes activos por - vía oral. Sin embargo estas medicaciones tienen carácter sustitutivo y no cura- tivo ya que al suspender su administración, reaparecen las manifestaciones del - padecimiento.

Con objeto de encontrar otras formas de tratamiento de diabetes.- Se iniciaron estudios basados en los trabajos de los fisiólogos argentinos Houssay y Rodríguez (1,2,4) quienes lograron demostrar, que los estrógenos previenen la- aparición de la diabetes experimental inducida en rutas mediante pancreatectomía subtotal.

Otros experimentos realizados por los mismos autores argentinos --

(5,6,7), han mostrado en ratas con diabetes inducida por aloxana, que el tratamiento diario durante seis meses con estrógenos produce una desaparición de la diabetes; si este tratamiento se complementa con el uso de insulina se evita la fase de hiperglicemia inicial que mata a los animales con diabetes más severa.- Así el número de animales con regresión definitiva del cuadro diabético aumenta considerablemente. En cambio los animales que recibieron solo insulina, al suspenderse la administración de esta hormona reaparece el cuadro característico de la diabetes.

Histológicamente se encontró en ambos casos, en ratas pancreatectomizadas y ratas aloxanizadas que fueron tratadas con estrógenos una regeneración de las células β, de los Islotes de Langerhans mostrando una hipertrofia e hiperplasia de estos islotes que se manifiesta, por formación de masas confluentes de Islotes en forma ramificada y poliglobular (7).

No obstante los resultados obtenidos por los autores citados, su experimento es sumamente largo y por lo tanto la observación de los resultados es muy lenta. Para poder profundizar en el conocimiento de la acción de los estrógenos sobre la glicemia de animales de laboratorio, es conveniente desarrollar pruebas biológicas cuya duración sea más breve y los resultados puedan confirmarse con más prontitud y frecuencia. Con este propósito se estudió en este trabajo, como influye el tratamiento con estrógenos en la diabetes inducida mediante aloxana, cuando el tratamiento con estrógenos se inicia antes, durante o después de la aloxanización.

METODO Y MATERIAL

Se pesaron y marcaron los animales de acuerdo con la clave del-laboratorio. Se provocó la diabetes en diferentes experimentos por medio de la aloxana administrando dosis de 150 mg, 175 mg y 200 mg por kilogramo de peso, disuelta en una solución de NaCl al 0.8% y aplicada por vía intraperitoneal.

Se trató de uniformar las condiciones ambientales de los animales, colocándolos en jaulas individuales, controlando su ingesta, limitando la cantidad de alimento disponible para cada rata a 10 g por día. Durante los dos primeros días siguientes a la aloxanización, se les suministró ad libitum una solución de d-glucosa al 5%. Posteriormente se les proporcionó agua en forma libre.

El dietilestilbestrol se administra por vía subcutánea, con intervalos de 24 horas y su efecto se estimó determinando la cantidad de glucosa en sangre circulante. La toma de las muestras de sangre en las ratas se hizo en forma ciega y programadas de tal manera, que los diversos grupos fueron segregados en forma balanceada con relación al tiempo.

Las determinaciones de glucosa en sangre se llevaron a cabo, siguiendo la técnica de Nelson-Somogyi (Micrométodo) (14).

La valoración estadística de las diferencias de mortalidad, entre los grupos que recibieron tratamientos diferentes, se llevó a cabo calculando la-

probabilidad exacta mediante la fórmula de Fisher.

No se utilizó la prueba de X^2 porque en todas las observaciones- hubo algún grupo en que el número de casos que murieron o sobrevivieron fué - menor de cinco.

MATERIAL.

1.- Se usaron ratas machos adultos, albinos, de la colonia del Departamento de Farmacología, de la Facultad de Medicina, de la cepa original Wistar. Con peso corporal de 250-450 gramos.

2.- Jeringas de tuberculina y jeringas de 5 ml.

3.- Agujas hipodérmicas número 20 con bisel regular.

4.- Tubos de ensaye, Pyrex, con una capacidad de 10 cc.

5.- Tubos de Folin-Wu, Pyrex.

6.- Acupipetas de 0.02 ml de la marca SHALI B 4547 $\pm$ 2%.

7.- Pipetas Pyrex de 10 ml, 5 ml, 1 ml.

8.- Un fotocolorímetro Carl-Zeiss, modelo ELKO III con filtro S 55 E, Lámpara de Tungsteno y cubas de vidrio de 2 ml. de capacidad.

9.- Solución de Dietilestilbestrol (E. Merck A G DARMSTADT, lote - 6925330) en concentraciones de 200 mg, 400 mg y 800 mg. en - un mililitro de Tween 80 y aforado a 4 ml, 8 ml y 16 ml respectivamente con agua destilada.

10.- Monohidrato de Aloxana (Nutritional Biochemicals Co.).

11.- Sulfato de Zinc.- (0.06 N) 17.25 g de $ZnSO_4$. $7H_2O$, se llevaron a 2000 ml con agua destilada.

12.- Hidróxido de Bario.- (0.06 N) 18.9 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$, se llevaron a 2000 ml con agua destilada.

Nota.- A 5 ml de $ZnSO_4$ se le agrega una gota de fenoftaleína y se titula con $Ba(OH)_2$ hasta rosa pálido, deben ajustarse estas soluciones si es necesario.

13.- Reactivo de Cobre.- 12 g de Na_2CO_3 y 6 g de Sal de Rochelle (tartraro de sodio y potasio) se disuelven en 100 ml de agua. - Se agregan 8 g de Bicarbonato de sodio, se agitan hasta disolver. Se añaden 40 ml de Sulfato de Cobre al 5% y se mezcla, esta solución, se afora a 500 ml con agua destilada.

14.- Reactivo de Arsenomolibdato.- Se disuelven 50 g de molibdato de amonio en 900 ml de agua, se añaden 42 ml de H_2SO_4 concentrado, se mezclan. Se disuelven 6 g de Arsenato de sodio - pulverizado ($NaAsO_4 . 7H_2O$) en 50 ml de agua y se añade a la mezcla, homogeneícese. Se incuba a 37°C durante 24 horas.

15.- Soluciones Patrones de Glucosa.- Se hacen soluciones de 200 - mg., 400 mg y 800 mg en 100 ml de agua destilada.

RESULTADOS

Se trató de analizar los efectos del dietilestilbestrol sobre niveles de glicemia y mortalidad en ratas tratadas con aloxana. Se realizaron cuatro - tipos de experimentos.

Influencia del dietilestilbestrol administrado durante un mes antes- de la aloxanización.

Se estudió el efecto de un tratamiento prolongado (32 días) y al - día siguiente que se suspende el tratamiento con el estrógeno se administra la -- aloxana. Se utilizaron tres grupos de animales con seis ratas macho cada uno.- A un grupo se le administró dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante 32 días.- A otro grupo se le trató con el solvente (Tween-80 1 ml + 10 ml de H_2O/Kg/- día). El último grupo se utilizó como testigo sin tratamiento.

Después de 32 días de tratamiento, todos los grupos de ratas recibieron una dosis elevada de aloxana (250 mg/Kg por vía intraperitoneal). De los animales que habían recibido el estrógeno, sólo un cuarenta por ciento había -- muerto, a las veinticuatro horas de haber recibido la aloxana, mientras que de- los grupos testigo la totalidad de ratas había muerto (véase tabla I). Para esti-- mar la probabilidad de que las diferencias observadas fueran debidas al azar, se calculó la probabilidad exacta de acuerdo con la fórmula de Fisher. (véase - - apéndice). Se obtuvo una $P = 0.029$ (bilateral) o sea que las diferencias obser-

vadas en la mortalidad son significativas (véase tabla II).

En la gráfica 1 se presentan los pesos promedio ± e.t.m. observadas cada día durante un mes de tratamiento tanto del grupo tratado con estrógeno, como de los grupos, uno tratado con solvente y el otro sin tratamiento. Estos valores se muestran también en la tabla III.

Influencia del dietilestilbestrol administrado simultáneamente con la aloxanización.

Se estudió el efecto del dietilestilbestrol administrado a partir del día de la aloxanización. Se hicieron tres experimentos de este tipo.

El primer experimento se realizó con 60 ratas macho a las cuales se trató con aloxana (200 mg/Kg por vía intraperitoneal). En seguida se distribuyó en dos grupos homogéneos según su peso. Un grupo de 20 animales recibió dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante tres días a partir del día de la aloxanización. Los 40 animales restantes fueron testigos sin tratamiento.

Al tercer día de haberse iniciado el tratamiento con el estrógeno habían muerto un setenta y cinco por ciento de las ratas que recibieron dietilestilbestrol mientras que sólo un treinta y cinco por ciento las ratas testigo habían muerto. (véase tabla IV). Con objeto de estimar la probabilidad de que la diferencia en mortalidad fuera debida al azar, se calculó la probabilidad exacta de acuerdo con la fórmula de Fisher, obteniéndose una P = 0.0074 (bilateral), o sea que la diferencia en la mortalidad observada es altamente significati

va (véase tabla V).

En el segundo experimento de este tipo se empleó para aloxanizar una dosis menor (175 mg/Kg por vía intraperitoneal). Cincuenta ratas macho -- fueron aloxanizadas y distribuidas en dos grupos homogeneos según peso. A un- grupo de diez animales se le administró dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante cuatro días a partir del día de la aloxanización, presentando al cuarto día - de tratamiento una mortalidad de setenta por ciento en tanto que los cuarenta - animales testigo sin tratamiento, presentaron sólo un cincuenta por ciento de -- mortalidad. La probabilidad de que la diferencia observada fuera debido al azar, se calculó de acuerdo con la fórmula exacta de Fisher (véase apéndice), se obtuvo un $P = 0.448$ (bilateral). (véase tabla VII). O sea que en este experimento la diferencia en mortalidad no fue significativa. En este experimento se llevó a cabo también una determinación de glicemia al cuarto día después de la - aloxanización, observándose que el grupo de ratas tratadas con dietilestilbestrol presentaron una concentración de glucosa sanguínea mayor en un 17%, que el - grupo testigo siendo esta diferencia estadísitcamente significativa. ($P < 0.02$) -- (véase tabla VI).

En el tercer experimento de este tipo, se administró una dosis mayor de estrógeno. Se aloxanizó a 30 ratas macho con una dosis de 175 mg/Kg y se distribuyeron homogeneamente en dos grupos. A diez animales se les administró dietilestilbestrol (400 mg/Kg/día) durante cinco días a partir del día de- la aloxanización, mientras el otro grupo que constaba de 20 animales, no reci-

bieron tratamiento.

Se les determinaron concentraciones sanguíneas de glucosa al primero, tercero y sexto días de tratamiento con estrógeno, observándose una diferencia porcentual de - 19% (P 0.50), + 15% (P 0.50) y + 35% (P 0.50) respectivamente, al comparar el grupo tratado con estrógeno con el grupo testigo sin tratamiento, aunque las diferencias no resultaron significativas (véase tabla VIII).

Al quinto día de iniciado el tratamiento de los animales que recibieron el estrógeno presentaron un cuarenta por ciento de mortalidad mientras -- que en los animales testigo habían muerto tan solo el diecisiete por ciento. Se calculó la probabilidad exacta de acuerdo con la fórmula de Fisher, obteniéndose una P = 0.4050 (Bilateral) o sea que la diferencia en la mortalidad entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa (véase tabla IX). De los tres - experimentos en los que el tratamiento con dietilestilbestrol se inició el día de la aloxanización se puede concluir que el tratamiento con el estrógeno aumentó tanto la glicemia como la mortalidad.

Influencia del dietilestilbestrol administrado simultáneamente con - la aloxanización, comparada con el efecto del dietilestilbestrol - administrado a ratas ya diabéticas por aloxana.

Se estudiaron los efectos del tratamiento con dietilestilbestrol en un grupo de ratas que empezó a recibir el estrógeno cinco días después de la - aloxanización para compararlos con ratas tratadas con dietilestilbestrol desde el-

día de la aloxanización y en ratas aloxanizadas que no recibieron otro tratamiento. Un grupo recibió dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante diez días a partir del día de la aloxanización. A otro grupo se le administró dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante cinco días a partir del quinto día de la aloxanización. El último grupo sirvió como testigo sin tratamiento.

Al comparar las glicemias observadas el décimo día de iniciado el experimento, se encontraron más elevadas en los animales tratados simultáneamente con aloxana y estrógeno en relación con el grupo en que el estrógeno se administró a partir del quinto día después de la aloxanización, observándose una diferencia porcentual de + 31% ($P > 0.50$). Las glicemias observadas en el grupo tratado con dietilestilbestrol a partir del quinto día después de la aloxanización, fueron semejantes a las del grupo testigo sin tratamiento estrogénico (véase tabla X).

Los datos de mortalidad al décimo día de iniciado el experimento en los animales tratados con estrógeno desde el día de la aloxanización, fue de un sesenta y seis por ciento en tanto que la mortalidad de los animales testigos fue de sólo un treinta y tres por ciento, para saber la probabilidad exacta de que la diferencia observada fuera debida al azar, se calculó de acuerdo con la fórmula de Fisher, fue de $P = 0.329$ (véase tabla XI). Aunque las diferencias observadas en este experimento no fueron estadísticamente significativas, si concuerdan con los resultados de los experimentos anteriores, en el sentido de que el tratamiento con el dietilestilbestrol desde el día de la aloxanización aumenta

la mortalidad y la glicemia. En contraste, cuando el tratamiento se inició cinco días después de la aloxanización y duró solo cinco días, no modificó la mortalidad ni la glicemia en forma significativa en relación al grupo testigo sin tratamiento estrogénico.

Influencia del dietilestilbestrol administrado a ratas ya diabéticas por aloxana.

Se realizó tratando con dietilestilbestrol a ratas aloxanizadas seis días antes. Se inició el experimento aloxanizando a ratas macho con una dosis de (200 mg/Kg por vía intraperitoneal) y seis días después las 10 ratas sobrevivientes se distribuyeron homogéneamente según valores de glicemia, en dos grupos de cinco animales cada uno.

Un grupo se trató con dietilestilbestrol (400 mg/Kg/día) durante diez días a partir del sexto día de la aloxanización. El otro grupo se trató con solvente (Tween-80 1 ml + 10 ml de H_2O/Kg/día). La mortalidad en los animales que recibieron estrógeno durante diez días fue de cero por ciento, mientras que en los animales tratados con solvente fue de cuarenta por ciento. Se calculó la probabilidad exacta de que la diferencia observada fuera debida al azar, con la fórmula de Fisher, obteniéndose una $P = 0.44$ (véase tabla XIII).

Las glicemias de las ratas tratadas con dietilestilbestrol fueron siempre menores a las del grupo testigo. Al tercero, séptimo y onceavo días fueron de un setenta y uno por ciento ($P > 0.50$), cuarenta y dos por ciento (P 0.50) y cuarenta por ciento ($P > 0.50$) respectivamente en relación con el

grupo tratado con solvente. Sin embargo, debido al número reducido de animales en cada grupo, las diferencias tanto en la mortalidad como en las glicemias no fueron estadísticamente significativas.

TABLA I

Protección contra el efecto letal de la aloxana mediante el tratamiento con Dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante 32 días antes de la aloxanización.

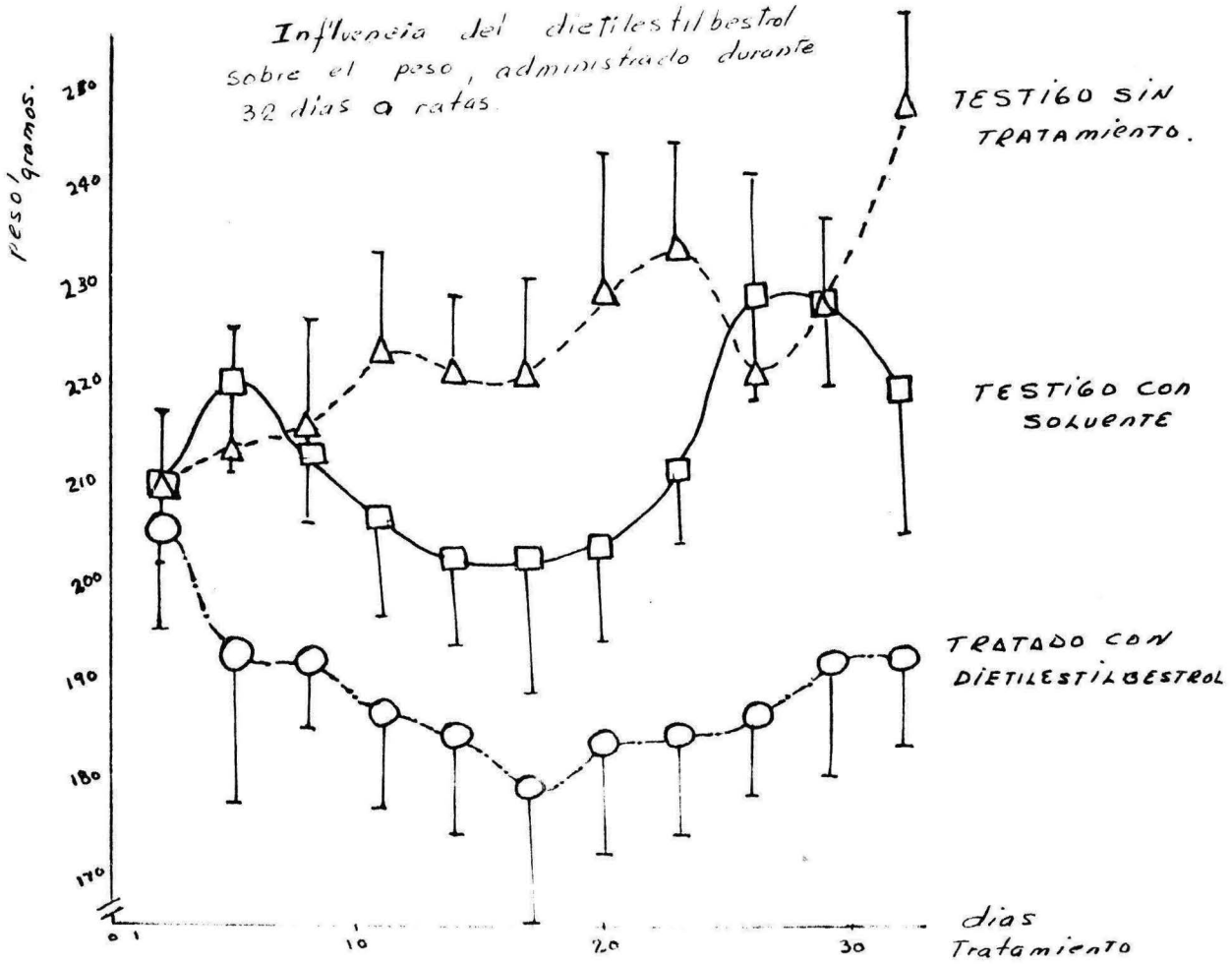
Tratamiento	Peso corporal inicial promedio en g±e.t.m	n	Mortalidad 24 horas después del tratamiento con aloxana	
			n	%
Testigo sin tratamiento	232 ± 12	6	6	100
Testigo con solvente (Tween-80) 1 ml+10 ml de H_2O/kg/día, durante 32 día	209 ± 8	6	6	100
Tratado con dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante 32 días.	206 ± 8	6	2	40

TABLA II

Protección contra el efecto letal de la aloxana mediante el tratamiento con dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante 32 dias antes de la aloxanización. Tabla 2x2.

Tratamiento	Vivos	Muertos	Totales
Testigo sin tratamiento y testigo con solvente(Tween	0 (0%)	12 (100%)	12
Tratado con dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día)	3 (60%)	2 (40%)	5
Totales	3	14	17

P= 0.029 Probabilidad exacta calculada según fórmula de Fisher (Prueba bilateral).


Influencia del dietilestilbestrol sobre el peso, administrado durante 32 días a ratas.
peso/gramos.
280
240
230
220
210
200
190
180
170
0 1
10
20
30
TESTIGO SIN TRATAMIENTO.
TESTIGO CON SOLUENTE
TRATADO CON DIETILESTILBESTROL
días Tratamiento

Gráfica 1.

TABLA III

Dias de Tratamiento.	Peso promedio en g ± e.t.m.		
	Testigo sin Tratamiento	Testigo con Solvente	Tratado con DEB
2	210 ± 8	210 ± 9	206 ± 10
5	214 ± 12	221 ± 10	193 ± 13
8	216 ± 11	215 ± 8	193 ± 7
11	224 ± 10	288 ± 11	187 ± 8
14	222 ± 7	204 ± 10	185 ± 9
17	222 ± 9	204 ± 13	179 ± 12
20	231 ± 13	215 ± 9	184 ± 10
23	235 ± 10	213 ± 8	185 ± 9
26	222 ± 9	232 ± 10	187 ± 7
29	230 ± 7	230 ± 7	192 ± 11
32	249 ± 10	221 ± 12	193 ± 8

TABLA IV

Aumento del efecto letal de la aloxana en ratas tratadas con dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) durante tres días a partir de la aloxanización.

Tratamiento	Peso corporal inicial promedio en g ± e. t.m.	n	Mortalidad al tercer día.	
			n	%
Aloxana (200 mg/Kg) Día 0.	296 ± 7	40	14	35
Aloxana (200 mg/Kg) Día 0. Dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día) Diario.	299 ± 8	20	15	75

Ingesta espontanea limitada a 10 g/animal/día.

TABLA V

Aumento del efcto letal de la aloxana en ratas tratadas con Dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día) durante tres días a partir de la aloxanización.

Tabla 2x2.

Tratamiento	Vivos	Muertos	Totales
Testigo sin Tratamiento	26 (65%)	14 (35%)	40
Tratado con dietilestil bestrol(200mg/ Kg/día)durante 3 días	5 (25%)	15 (75%)	20
Totales	31	29	60

P= 0.0074 Probabilidad exacta calculada según fórmula de Fisher(Prueba bilateral).

TABLA VI

Aumento en la glicemia de ratas aloxanizadas, producida por el tratamiento con dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día) durante cuatro días a partir de la aloxanización.

Tratamiento	Peso corporal inicial promedio en g ± e.t.m.	n	Mortalidad al cuarto día.		Glicemia promedio en mg/100 ml de sangre ± e.t.m. al 4º día. Diferencia porcentual y P.
			n	%	
Aloxana (175 mg/Kg) Día 0.	350 ± 16	40	20	50	583 ± 63
Aloxana(175 mg/Kg). Día 0. Dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día). Diario.	371 ± 16	10	7	70	681 ± 36 + 17% (P 0.02)

Ingesta espontanea limitada a 10 g/ animal/ día.

TABLA VII

Aumento del efecto letal de la aloxana(175mg/Kg) en animales tratados con Dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día) durante cuatro días a partir de la aloxanización. Tabla 2x2

Tratamiento	Vivos	Muertos	Totales
Testigo sin tratamiento	20 (50%)	20 (50%)	40
Tratado con Dietilestil bestrol(200mg/ Kg/día)	3 (30%)	7 (70%)	10
Totales	23	27	50

P- 0.448 Probabilidad exacta calculada según la Fórmula de Fisher(Prueba bilatreal).

TABLA VIII

Aumento en la glicemia y en el efecto letal de la aloxana en ratas tratadas con dietilestilbestrol(400 mg/Kg/día) durante cinco dias a partir de la aloxanización.

Tratamiento	n	Mortalidad al quinto día.		Glicemia promedio en mg/100 ml de sangre ± e.t.m. Diferencia porcentual y P.		
		n	%	1er día	3er día	6o día
Aloxana (175 mg/Kg) Día 0.	17	3	17	126 ± 23	568 ±146	375 ± 75
Aloxana (175 mg /Kg). Día 0. Dietilestilbestrol (400 mg/Kg /día).Diario.	10	4	40	102 ± 23 - 19% (P> 0.50)	656 ±133 + 15% (P> 0.50)	508 ± 97 + 35% (P>0.50)

La diferencia en las glicemias, entre ambos grupos no resultaron significativas.

Ingesta espontanea limitada a 10 g/animal/día.

TABLA IX

Aumento del efecto letal de la aloxana en ratas tratadas con dietilestilbestrol(400 mg/Kg/día) durante cinco días a partir de la aloxanización.

Tabla 2x2

Tratamiento	Vivos	Muertos	Totales
Testigo sin tratamiento	14 (83%)	3 (17%)	17
Tratado con Dietilestilbestrol(400 mg/Kg/día)	6 (60%)	4 (40%)	10
Totales.	20	7	27

P= 0.4056 Probabilidad exacta calculada según fórmula de Fisher (Prueba bilateral).

TABLA X

Aumento del efecto letal de la aloxana(150 mg/Kg) en ratas tratadas con dietilestilbestrol (200mg/Kg/día) durante diez días a partir de la aloxanizaciónY disminución en ratas tratadas con dietilsetilbestrol(200 mg/Kg/día) durante cinco días, a partir del quinto día después de la aloxanización.

Tratamiento (aloxanización)	Peso corporal inicial promedio en g ± e.t.m.	n	Glicemia Promedio en mg/100 ml de sangre± e.t.m	Mortalidad al décimo día. n	%	Glicemia promedio en mg/100ml de sangre±e.t.m. Diferencia porcentual y P.
Dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día).Se comenzó a inyectar después de alox.Diar	314 ± 14	9	215 ± 90	6	66	133 ± 80 + 31% (P> 0.50)
Dietilestilbestrol (200 mg/Kg/día).Se comenzó a inyectar 5 días después de alox Continuando diario.	337 ± 13	9	216 ± 82	3	33	lol ± 12
Testigo sin Tratamiento	303 ± 10	9	179 ± 72	3	33	104 ± 9

La diferencia entre las glicemias del grupo tratado con estrógeno desde el día de la aloxanización y el grupo que recibió el estrógeno a partir del quinto día de la aloxanización , no fúe significativa estadisticamente.

Ingesta espontanea limitada a 10 g/animal/día.

TABLA XI

Aumento del efecto letal de la aloxana(150 mg/Kg) en ratas tratadas con dietilestilbestrol durante diez días a partir del día de la aloxanización.

Tabla 2x2

Tratamiento	Vivos	Muertos	Totales
Testigo sin Tratamiento	6 (66%)	3 (33%)	9
Tratado con dietilestilbestrol(200 mg/kg/día)desde eldía de la aloxaniz.	3 (33%)	6 (66%)	9
Totales	9	9	18

P- 0.329 Probabilidad exacta calculada según la fórmula de Fisher (Prueba bilateral).

TABLA XII

Disminución en la glicemia en ratas aloxanizadas(200 mg/Kg) producida por el tratamiento con dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día) durante diez días a partir del sexto día después de la aloxanización.

Tratamiento (aloxanización desde seis días antes,200mg/Kg)	Peso corporal inicial promedio en g ±e.t.m.	n	Glicemia promedio en mg/100 ml de sangre±e.t.m.	Mortalidad al décimo día.		Glicemia promedio en mg/100 ml de sangre± e.t.m. Diferencia porcentual y P.		
				n	%	3º día	7º día	11º día
Testigo con solvente(Tween-80 1 ml+10 ml H_2O/Kg/día) Diario.	295 ± 9	5	318 ± 90	2	40	208±66	336±126	465±205
Tratado con dietilestilbestrol(400 mg/Kg/día). Diario.	307 ± 12	5	274 ± 95	0	0	166±60 -29% (P > 0.50)	143±40 -58% (P>0.50)	195±88 -60% (P>0.50)

La diferencia entre las glicemias del grupo testigo con el grupo tratado con estrógeno , no llegó a ser estadisticamente significativa.

Ingesta espontanea limitada a 10 g/animal/día.

TABLA XIII

Disminución de la mortalidad en ratas aloxanizadas(200 mg/kg) producida por el tratamiento con dietilestilbestrol(200 mg/Kg/día) durante diez días a partir del sexto día después de de la aloxanización. Tabla 2x2

Tratamiento	Vivos	Muertos	Totales
Tratado con solvente(Tween 80)	3 (60%)	2 (40%)	5
Tratado con dietilestilbestrol(400 mg/Kg/día)	5 (100%)	0 (0%)	5
Totales	8	2	10

P- 0.44 Probabilidad exacta calculada según fórmula de Fisher (Prueba bilateral).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Influencia del dietilestilbestrol administrado durante un mes antes de la aloxanización.

El tratamiento con dietilestilbestrol durante cinco días disminuye en forma pronunciada la mortalidad que resulta de administrar aloxana a una dosis elevada. Este efecto protector del dietilestilbestrol probablemente sea debido, a que los animales tratados previamente con este estrógeno desarrolle una diabetes de menor intensidad al ser tratadas con aloxana. Sin embargo, para dar mayor fundamento a esta interpretación, será conveniente comprobar un efecto protector, con una dosis de aloxana que no lleguen a ser mortales pero sí logren producir una diabetes. Con los conocimientos disponibles es difícil plantear cual pudiera ser el mecanismo que participa en la protección que puede conferir la administración previa de dietilestilbestrol, contra la acción letal de la aloxana.

Influencia del dietilestilbestrol administrado simultáneamente con la aloxana.

Con los conocimientos actuales no es posible dar una interpretación sencilla a las observaciones realizadas en ratas tratadas simultáneamente con aloxana y dietilestilbestrol. Sin embargo, parece importante señalar que en estas condiciones solo se observa una intensificación de la diabetes y una mayor

mortalidad, como resultado de la administración de los estrógenos aun con las - dosis elevadas y a diferencia de las otras modalidades de tratamiento con estrógenos, no se produce un efecto antidiabético, a pesar de las dosis elevadas.

Influencia del dietilestilbestrol administrado a ratas ya diabéticas por aloxana.

En todos los estudios realizados por los autores argentinos utilizando dosis pequeñas de estrógeno se ha observado un efecto bifásico o sea una elevación inicial de la glicemia, con un aumento concomitante de la mortalidad, - seguida por la disminución de esta a niveles normales.

De acuerdo con esos estudios, aunque fuera posible encontrar una sustancia análoga a los estrógenos y con un efecto antiabético y sin acción estrógenica, su uso clínico estaría limitado seriamente por la intensificación inicial de la diabetes que produciría.

Los resultados observados en este estudio en que se administraron dosis elevadas de dietilestilbestrol a ratas con diabetes aloxánica establecida, -- muestran que es posible observar un efecto andiaibético desde un principio, sin - pasar por una fase hiperglicemiante (véase tablas XII y XIII). Además, el acortamiento considerable en el tiempo necesario, para producir efectos antidiabéticos, con las dosis elevadas de estrógenos, permiten preveer que sea posible producir, en el humano mediante tratamiento con sustancias analógas a los estrógenos, efectos antidiabéticos a corto plazo y sin producir un aumento inicial en - su diabetes.

Prueba de t de Student-Fisher (para varianzas homogéneas).

Fórmula de definición:

$$t = \frac{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}{S_{\bar{y}_1 - \bar{y}_2}}$$

Fórmula de trabajo:

$$t = \sqrt{\frac{(n_2 \quad Y_1 - n_1 \quad Y_2)^2 \, (n_1 + n_2 - 2)}{(n_2 \, d.c._1 + n_1 \, d.c._2)\,(n_1 + n_2)}}$$

Donde: $d.c. = n \sum Y^2 - (\sum Y)^2$

grados de libertad (g.l.) $= n_1 + n_2 - 2$

Prueba de t modificada de Cochran (para varianzas heterogeneas).

Fórmula de trabajo:

$$t = \sqrt{\frac{(n_2 \quad Y_1 - n_1 \quad Y_2)^2 \, (n_1 - 1)\,(n_2 - 1)}{W_1 + W_2}}$$

Donde: $W_1 = n_2^2 \, (n_2 - 1) \, d.c._1$

$W_2 = n_1^2 \, (n_1 - 1) \, d.c._2$

$d.c. = n \sum Y^2 - (\sum Y)^2$

Cuando $n_1 = n_2 = n$ la t calculada se compara directamente en -

las tablas de t con n-1 grados de libertad.

Cuando $n_1 = n_2$ se calcula una t intermedia entre t_1 y t_2 de -- acuerdo con la fórmula:

$$t_{1-2} = \frac{W_1 t_1 + W_2 t_2}{W_1 + W_2}$$

y se compara esta t intermedia (t_{1-2}) con la t experimental de acuerdo con - la fórmula indicada arriba.

t_1 = valor de t para n_1-1 grados de libertad para la P seleccionada.

t_2 = valor de t para n_2-1 grados de libertad para la misma P seleccionada.

Si la t experimental es igual o mayor a la t interpolada esto indica que es significativa la diferencia entre los promedios. Hay que señalar que esta prueba es ligeramente conservadora de tal manera que en ocasiones podrá - indicar homogeneidad cuando en realidad exista una diferencia significativa.

Cálculo de Probabilidad Exacta, Según la Fórmula de Fisher.

Cuando cualquiera de los valores a, b, c, d, sea igual o menor de 5 (ver tabla XIV), la probabilidad calculada de acuerdo con la Prueba X^2,- resulta demasiado imprecisa. En estos casos es indispensable calcular la probabilidad exacta a partir de la Fórmula de Fisher.

Tabla XIV. (tabla de 2 x 2)

	Grupo I	Grupo II	Total
Vivos	a	b	a + b
Muertos	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d = N

$$P/2 = \frac{(a+b)!\,(c+d)!\,(a+c)!\,(b+c)!}{a!\,b!\,c!\,d!\,N!}$$

Fórmula de Trabajo:

$$P/2 = \log (a+b)! + \log (c+d)! + \log (a+c)! + \log (b+d)! - \log a! - \log b! - \log c! - -- \log d! - \log N!$$

Probabilidad Exacta = Σ P x 2.

Por ejemplo si c fuese igual 5 (tabla V), se calcularía la probabilidad exacta para ete valor y para 4, 3, 2, 1, 0; procediendo a sumar las probabilidades obtenidas y dividir la suma entre dos debido a que la prueba es bilateral.

Cuando c = 5

26	14	40
5	15	20
31	29	60

P = 0.003144

Cuando c = 4

27	13	40
4	16	20
31	29	60

P = 0.0005094

Cuando c = 3

28	12	40
3	17	20
31	29	60

P = 0.00005565

Cuando c = 2

29	11	40
2	18	20
31	29	60

P = 0.000003837

Cuando c = 1

30	10	40
1	19	20
31	29	60

P = 0.0000001481

Cuando c = 0

31	9	40
0	20	20
31	29	60

P = 0.000000002392

Σ P/2 = 0.0037130337492

P = 0.007426074984

BIBLIOGRAFIA

1.- Rodríguez, R.R., "Prevention of diabetes in forcefed rats under prolonged diethylestilbestrol administration". Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73 : 317 - (1950).

2.- Houssay, B.A., V.G. Foglia and R.R. Rodríguez, "Production or prevention of some types of experimental diabetes by Oestrogens or Corticoides". Acta Endocrin. 17 : 146 (1954).

3.- Houssay, B.A., V.G., Foglia, C. Martínez. "Influence of Thyroid on - alloxan and pancreatic diabetes in rat". Endocrinology. 39 : 361 (1964).

4.- Rodríguez, R.R. "The effects of sexual glands and steroids in partially -- pancreatctomized rats". Acta physiol. latinoam. 1 : 226 (1951).

5.- Rodríguez, R.R. "Alloxan diabetes in the rat recorvery following estrogen treatment". Endocrinology. Endocrinology. 55 : 1 (1954).

6.- Lazarow, A. "Alloxan diabetes and the mechanism of beta cell damage - by chemical agents", in Experimental Diabetes and Its Relation to Clinical Disease. Blackweell Scientific Publications, Oxford, p. 49 (1954).

7.- Houssay, B.A. "Some hormone imterrelationships in experimental diabe-- tes" National Vitamin Fundation I.N.C., N.Y. (1954).

8.- Houssay, B.A., and J.C. Penhos. "Diabetogenic action of pituitary hormones on adrenalectomized hypophysectomized dogs. Endocrinolody. 59 : -- 637 (1956).

9.- Young, F.G. "Permanent experimental diabtes produced pituitary (anterior lobe) inyections". Lancet. 2 : 372 (1937).

10.- Ovies M. "Acción hipoglicemiante de los estrógenos". Tesis. Facultad - de Química. U.N.A.M. (1969).

11.- Houssay, B.A. Diabetes. Edited by Robert H. Williams M.D. Hoeber -- Medical Division, New York, 233 (1965).

12.- Calvert, R.T. and G. Caplin. "The Houssay Syndrome". Brit. M.J. 2 : - 71 (1957).

13.- Jadresis, A. Endrocrinología, Fundamento y Clínica. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago de Chile, 505 (1968).

14.- Natelson, S. Microtechniques of Clinical Chemestry. 2ond. Rd. Springfield, Ill. U.S.A. Charles Thomas (1964).

ESTA TESIS SE IMPRIMIO EN MAYO DE 1970
EMPLEANDO EL SISTEMA DE REPRODUCCION
XEROX OFFSET EN LOS TALLERES DE
IMPRESOS OFFSALI-G, S. A., AV. COLONIA DEL
VALLE 531 TEL. 5-23-21-05 OFICINAS MIER Y
PESADO 349-A TEL. 5-23-03-33 MEXICO 12, D. F.