

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL ION MAGNESIO EN EL FINA SANGRE DE CARRERAS

Médicos Veterinarios Drs. Francisco Rodríguez V.
y Octavio Bastías N.— Químico Farmacéutico
Sra. Gabriela Gazmuri P.

INTRODUCCION

Nuestros propósitos fueron llegar a determinar la concentración de uno de los minerales, el Magnesio, en el suero sanguíneo del Fina Sangre de Carreras, en otras palabras, la magnesemia normal en esta raza, utilizando un método espectrofométrico. Para esto hemos elegido animales clínicamente sanos y recurrido a los siguientes exámenes de laboratorio: Bilirrubinemia, Hemograma, Velocidad de Sedimentación y Examen Coproparasitario.

Una vez conseguida esta "Población Equina Normal" se procedió a ver si existía o no variación con la edad y sexo, para terminar comparándola con los casos de Parasitismo de tipo infeccioso, etc., que podrían tener alguna influencia en la cifra del Magnesio sérico.

MATERIAL Y METODO DE TRABAJO

1.—**Material.**—La muestra consistía en 20 cc. de sangre extraída por punción de la yugular, sin agregar tipo alguno de coagulante al tubo, el cual era dejado en reposo para la formación del coágulo y la posterior exudación del suero. En éste se dosificaba el Magnesio y la Bilirrubina.

Igualmente, se extraía 5 cc. de sangre para hacer el hemograma, en un frasco con mezcla anticoagulante seca de Wintrobe.

Finalmente, se obtenían las fecas para efectuar un examen Coproparasitario.

Todas las muestras se obtuvieron durante las mañanas en la Clínica Veterinaria del Hipódromo Chile.

2.—**Método.**

a) **Método empleado en la determinación del Magnesio.**

Se empleó una adaptación espectrofotométrica basada en los métodos y modificaciones de Kolthoff, Hirschfelder, Serles, Haury, Pearson y Schweigert. (3).

Principio.—El Magnesio libre de proteína, con pH. cuidadosamente ajustado, es precipitado como hidróxido en presencia del Amarillo de Titanio. El intenso color formado (Reacción de Kolthoff) es absorbido en el hidróxido precipitado, produciéndose una solución coloidal estabilizada por el Almidón.

La Hidroxilamina se usa para prevenir el desvanecimiento del color y la sacarosa es agregada para impedir el efecto de un exceso de Calcio.

Preparación de los Reactivos

- 1.—Acido Sulfúrico, 2/3 N.
- 2.—Tungstato de Sodio. (Solución acuosa al 10%).
- 3.—Solución Indicadora Rojo de Metilo. (Alcohólica al 0,01%).
- 4.—Hidróxido de Sodio, 0,1 N.
- 5.—Sacarosa al 5%.
- 6.—Solución de Clorhidrato de Hidroxilamina al 2%.
- 7.—Solución de Almidón al 1,5%.
- 8.—Amarillo de Titanio. (Solución acuosa al 0,075%).
- 9.—Hidróxido de Sodio, 1,5 N.

Técnica

- 1.—En un tubo de centrifuga de 15 ml. colocar 4 ml. de agua bidestilada.
- 2.—Mediante una pipeta exactamente calibrada agregar 2 ml. de suero, succionando y expeliendo algo de él varias veces para lavarla.
- 3.—Agregar 2 ml. de ácido sulfúrico 2/3 N (1) y mezclar, pero suavemente, el tubo hasta que la mezcla esté uniforme.
- 4.—Agregar 2 ml. de tungstato de sodio al 10% (2), gota a gota, mientras constantemente, pero en forma suave, se agita el tubo.
- 5.—Sacudir el tubo vigorosamente hasta que la mezcla esté uniforme y libre de espuma.
- 6.—Centrifugar a 2.500 rpm. durante un minuto.
- 7.—En un frasco volumétrico (tubo de Klett) de 10 ml. (muestra) colocar 3 ml. del líquido claro sobrenadante del centrifugado.
- 8.—Colocar en otro tubo de Klett 3 ml. de agua bidestilada.
- 9.—A cada tubo agregar una gota de rojo de metilo (solución indicadora (3) y cuidadosamente agregar hidróxido de sodio 0,1 N (4) gota a gota por medio de un gotario de tipo capilar, hasta el color amarillo del indicador; evitar un exceso.
- 10.—Agregar un ml. de sacarosa al 5% (5) y mezclar.
- 11.—Agregar 1 ml. de clorhidrato de hidroxilamina al 2% (6) y mezclar.
- 12.—Agregar 1,5 ml. de la solución de almidón al 1,5% (7) y mezclar.
- 13.—Agregar 1 ml. de la solución de amarillo de titanio al 0,075% (8) y mezclar.
- 14.—Agregar 2 ml. de hidróxido de sodio 1,5 N (9) y mezclar.
- 15.—Inmediatamente diluir a 10 ml. con agua bidestilada y mezclar completamente.
- 16.—Colocar al baño de maría a 25° C. por 10 minutos.
- 17.—Medir la densidad óptica de la muestra por medio del reactivo blanco puesto a 0 (cero) a una longitud de onda de 540 ml. y obtener la concentración de Magnesio la tabla de calibración.

Procedimiento de Calibración

Del N° 3-9 inclusive, preparados en la misma forma que los usados en la determinación en el suero. Además:

10.—MAGNESIO STANDARD.

a) **Stock de Magnesio Standard:** Un ml. contiene un mg. de Magnesio.

b) **Solución Standard:** 1 ml. contiene 0,03 ml. de Magnesio.

c) **Calibración Standard:** El Standard representa las siguientes concentraciones de Magnesio: 0 - 1,25 - 2,5 5 - 7,5 10 y 12,5 mg. de Magnesio por 100 ml. de la muestra.

Se efectuó el cálculo de la recta ideal. El cálculo del coeficiente de correlación; el cálculo para determinar si el coeficiente de correlación era o no significativo; el cálculo de χ^2 (ji).

b) **En las determinaciones del hemograma y de la velocidad de sedimentación,** se siguió el método empleado por la señora Gabriela Gasmuri P., y colaboradores, (4).

c) **Método empleado en la determinación de la Bilirrubinemia.** Se recurrió al método de Van Der Berg que por ser clásico no lo describiremos.

d) **Examen coproparasitario.** Se prefirió un método práctico cuali y cuantitativo al mismo tiempo. Fundamentalmente su técnica es la de un examen coprológico simple (10 gr. de fecas en 100 ml. de solución saturada de NaCl) y su variante consiste en contar con los huevos por campo de microscopio con un aumento de 100 diámetros según la siguiente pauta:

0	huevo por campo	=	Negativo.
2-4	huevo por campo	=	Escasos.
5-8	huevo por campo	=	Regular cantidad.
9-12	huevo por campo	=	Abundante cantidad.
Sobre 12	huevo por campo	=	Muy abundantes.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA EXPERIMENTACION

Conforme a lo anteriormente expresado y de acuerdo con las diferentes muestras realizadas se ha procedido al análisis estadístico de los resultados, los que en resumen se presentan en la siguiente forma:

a) **Caballos normales:** N° de muestras: 30.

Promedio de Mg.	\bar{x} =	3,22	mg.	%
Desviación Standard	Sx =	0,46		
Error Standard del Promedio	Sx =	0,083		
Coeficiente de Variación	Cv =	14,285		%

b) **Caballos anormales:** N° de muestras: 183.

Promedio de Mg.	\bar{x} =	2,55 mg. %
Desviación Standard	Sx =	0,83
Error Standard del Promedio	$S\bar{x}$ =	0,061
Coefficiente de Variación	Cv =	32,5 %

COMPARACION DE LAS FOBLACIONES NORMAL Y ANORMAL

Se realizó aplicando la fórmula de "t de Student" lo que dio un valor significativo para la diferencia entre normal y anormal.

Valor calculado:

$$t = 4,2746$$

D I S C U S I O N

El Fina Sangre de Carreras es un animal sometido a un régimen de vida completamente artificial; nos bastará con citar su sistema alimenticio, sus constantes tratamientos tónicos, desintoxicantes y sobre todo estimulantes. Por estas razones es muy difícil conseguir una población equina normal; de aquí podríamos obtener entonces la explicación de que se lograran clasificar 30 como normales en un muestreo de más de 200.

Pero además este número proporcionalmente escaso es asimismo el resultado del planteamiento del trabajo, por cuanto no sólo se consideró que los animales estuvieran clínicamente sanos, sino que además para ser considerado normal debía estar exento de parásitos, con bilirrubinemia normal y con su velocidad de sedimentación y hemograma también normales.

Para este último aspecto hemos tomado como pauta el trabajo efectuado por la señora Gabriela Gazmuri P., con la colaboración de los doctores de la Clínica Veterinaria del Hipódromo Chile, trabajo que en general coincide con el de Archer y Miller, (1).

La medida de Magnesio obtenida por nosotros es un poco superior a la que dan los diversos autores consultados, tal diferencia podríamos explicarla considerando los siguientes factores:

1.—Por el hecho de haber trabajado con muestras provenientes de animales completamente normales, pues en los estados mórbidos se produce, en general, una baja del Magnesio que es estadísticamente significativa.

2.—Por la diferencia de método empleado, pues sabemos que el método espectrofotométrico empleado por nosotros es uno de los más sensibles.

No obstante el número relativamente reducido de muestras que se empleó en los casos normales, su coeficiente de variabilidad es bajo (14,285), cifra que asigna a esta experiencia un alto valor estadístico.

Inversamente en los estados morbosos (parasitarios, infecciosos, etc.), el coeficiente de variabilidad es alto (32,5), a pesar de ser el número de muestras mucho más abundantes, lo que indicaría la amplia variación del Magnesio en dichos estados.

Es indudable que en éste influye además el hecho de haber considerado todos estos casos en conjunto. Se podría, entonces, haberlos agrupado por tipo de afecciones, pero ello ha resultado imposible, por cuanto estas afecciones que aparecen en el muestreo son múltiples, condición desfavorable que se agrava al constatar que casi todos los animales tienen más de una afección, para lo cual basta con estudiar cada muestra en particular. Estos hechos conducirían a formar una gran cantidad de grupos que contarían con un número muy reducido de muestras y, por lo tanto, sin valor estadístico. A esto habría que agregar el problema de determinar a qué afección se le podría dar más importancia en el caso que la muestra analizada proviniera de un animal con más de una afección.

Por todas estas razones hemos preferido limitarnos a hacer algunos alcances relacionados con ciertos casos que hemos considerado interesantes y que podrían servir de base a investigaciones futuras.

1.—Es indudable que en los tireópatas, en general, existe una baja del Magnesio sérico (5). El caso N° 58 que presenta bocio tiroideo podría hacernos pensar que en el equino ocurriría algo semejante, pues se observa una baja manifiesta de este elemento en el caso mencionado.

2.—Si consideramos la anemia como enfermedad y no como síntoma, podemos darnos cuenta que existe en estos casos baja del Magnesio; sobre todo evidente en los casos de anemia franca. Ella llega a extremarse en el caso N° 183, donde se obtuvo 0,39 mg. de Magnesio %, la más baja de todo el muestreo. Su recuento eritrocitario es muy bajo (2.160.000) y en general el hemograma en la serie roja demuestra una marcada anemia macrocítica, discretamente hipocrómica. Esto último nos indicaría una carencia no sólo de Magnesio sino también de Fierro y probablemente de otros elementos minerales.

3.—El caso N° 44 acusa una baja apreciable del Magnesio. Su hemograma demuestra una disminución de las tres series (anemia, leucopenia, trombocitopenia), observación que nos permitiría considerar el presente caso como afecto de una enfermedad de la médula ósea.

Volviendo nuevamente al análisis de los casos normales, vemos que al comparar los sexos resultó que éste no tiene influencia en la cifra del Magnesio sérico. En este caso no se consideraron 3 muestras provenientes de machos castrados.

Como se demostró que el sexo no tiene influencia en la variación del Magnesio, para estudiar la posible intervención de la edad no se consideró aquella cualidad. Se comparó solamente los animales de 2 años con los de 4 y no se consideraron las demás edades por no disponer del número adecuado de muestras.

Este análisis estadístico arrojó un resultado negativo, es decir, el coeficiente de "t" de Studen no fue significativo. Sin embargo, dado el escaso número de muestras y lo relativamente cercano que está el valor obtenido del valor significativo, sería necesario trabajar con más muestras para efectuar un pronunciamiento definitivo.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1.—Se determinó el Magnesio en el suero del Fina Sangre de Carreras, usando un método espectrofotométrico basado en la precipitación de este elemento por el Amarillo de Titanio.

2.—Los animales de donde se obtenía la muestra, fueron examinados clínicamente y sometidos a los siguientes exámenes de laboratorio: bilirrubinemia, hemograma, velocidad de sedimentación y examen coproparasitario, con el objeto de obtener una población lo más normal posible.

3.—Mediante ellos se dividió el total de determinaciones de Magnesio en 2 grupos: normales y anormales.

4.—El método empleado para la determinación de la bilirrubinemia fue el de Van der Bergh. El del examen coproparasitario fue una variación del examen simple contando los huevos por campo microscópico de 100 diámetros según una pauta práctica. Para el recuento de eritrocitos y leucocitos se usó la cámara de Neubauer y la fórmula de éstos últimos se hizo según la técnica de Schiling sobre 100 elementos. En la tinción de los frotos se empleó el colorante de Wright. La hemoglobina se determinó por el método clorimétrico de Klett-Sumerson y la velocidad de sedimentación según la técnica de Westengreen. Para los cálculos de los valores del Hematocrito, Hemoglobina Corpuscular Media, Volumen Corpuscular Medio y Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media se emplearon los métodos aconsejados por Wintrobe. (6).

5.—La media de Magnesio para la población normal fue de 3,22 mg. % o 2,648 miliequivalentes.

6.—El sexo parece no tener influencia en la cifra del Magnesio sérico, pues su comparación no fue significativa.

7.—La edad, al compararla da un coeficiente "t" de Student igual a 1,736 que no es estadísticamente significativo. Sin embargo, su valor es cercano a 2,060, cifra que es significativa. Además, el número de muestras con que se trabajó fue reducido; en vista de estos hechos, si bien la edad estadísticamente no es significativa, no podría descartarse una posible influencia de ella.

8.—La media obtenida para la Población Anormal fue de 2,55 mg. % o sea 2,097 miliequivalentes.

9.—Al comparar estas dos poblaciones, normal y anormal, por el test de Student, se observó que existe una diferencia significativa, en el sentido de que en esta última se presenta, en general, una baja de la magnesemia.

B I B L I O G R A F I A

- 1.—ARCHER R. K. and MILLER Wm., C.—"The interpretation of Maematological Examination in Thoroughbred Horses".—Veterinary Record, 4 abril, pp. 273-276.

- 2.—**CANO, A.**—“Lecciones de Biometría”. Apuntes de Clase. Escuela de Medicina Veterinaria. 1955.
- 3.—**FISTER HAROLD J.**—“Manual of Standardized Procedures for Spectrophotometric Chemistry”. Standard Scientific Supply Corporation. 1950.
- 4.—**GAZMURI P. G.**—“Estudios de los valores Hematológicos normales y sedimentación globular en los caballos fina Sangre de Carrera”. Boletín del Inst. Inv. Vet. Vol. II, Fasc. 4, Sept. 1959.
- 5.—**VITALE J. J., HEGSTED MARK; NAKAMURA MOTOOMI and CONNORS, P.**—“The effect of thyroxine on Magnesium requirement”. The Journal of Biological Chemistry, Junio 1957. pp. 597-601.
- 6.—**WINTROBE and WINTROBE.**—“Clinical Hematology”. Lea and Febiger. 1947.

La parte clínica de este trabajo se realizó en la clínica Veterinaria del Hipódromo Chile.