

Intoxicación por acetato de metil-prednisolona. Protección con calcitonina Estudio experimental

A. Aznar Aznar*

P. Moratinos Palomero**

S. Sánchez Domínguez**

A. Prieto Santos**

T. Martínez López***

M. L. Bentura Remacha****

RESUMEN

Se hace un estudio en 30 conejos distribuidos en tres series, sometidos, respectivamente, a la inyección 2 veces por semana de suero fisiológico (serie núm. 1), metil-prednisolona (serie núm. 2) o metil-prednisolona y calcitonina (serie núm. 3) y que se van sacrificando con ritmo semanal.

Los resultados ponen de manifiesto que la administración de acetato de metil-prednisolona a altas dosis provoca en el conejo alteraciones hepáticas evidentes y menos intensas a nivel de pulmón y riñón, pero que es el hueso el tejido más afectado, pudiéndose apreciar un adelgazamiento de las trabéculas óseas a nivel de la cabeza femoral y humeral, que es estadísticamente significativo a partir de la tercera semana de tratamiento.

La administración simultánea de calcitonina no influye sobre los efectos viscerales de esta intoxicación experimental. En cambio, a nivel óseo tiene un efecto protector, y en la serie núm. 3 las medidas de las trabéculas óseas, si bien son ligeramente inferiores a las obtenidas en la serie testigo, no presentan diferencias estadísticamente significativas con éstas.

ABSTRACT

Three series of rabbits were submitted to twice weekly injections of saline alone the first group, metil-prednisolone the second and metil-prednisolone and calcitonine the third one, being sacrificed afterwards.

High doses of metil-prednisolone provoked evident liver lesions and other less intense in the lungs and kidneys; but bone was the most affected tissue, with a thinning of bone trabecules in humeral or femoral bone heads, statistically significant after the 3 d. week of treatment.

Calcitonine in simultaneous administration showed a protective effect against the bone lesions produce by metil-prednisolone, being ineffective in preventing visceral lesions.

INTRODUCCION

Hoy día el uso y abuso de las propiedades antiinflamatorias de los corticoides puede condicionar la presentación de hipercorticismismo yatrogénico, siendo la osteopenia una de sus más relevantes manifestaciones (12, 28). También se han observado alteracio-

nes del metabolismo de los lípidos (22) y efectos secundarios sobre algunos órganos, en especial sobre el hígado (23).

La calcitonina se ha visto que tiene un cierto efecto protector sobre el tejido óseo, retrasando y evitando en cierto modo algunos de los desfavorables efectos de la corticoterapia a altas dosis administrada de modo prolongado (2, 26). Tanto es así que algunos autores han hablado de un cierto antagonismo corticoides-calcitonina (13). Ello nos ha inducido a estudiar experimentalmente algunos efectos de la intoxicación por corticoides y su posible alteración por la administración simultánea de calcitonina, por si los resultados nos arrojasen alguna luz

que contribuya al mejor conocimiento de la acción de estas hormonas.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizan 30 conejos machos de raza Nueva Zelanda, con un peso comprendido entre 2,200 y 2,900 g., con una media de $2,560 \pm 73,33$ g., distribuidos al azar en tres series homogéneas de 10 conejos cada una. A los animales de la serie número 1 se les administró 1 cc. de suero salino fisiológico por vía subcutánea dos veces a la semana. A los animales de la serie número 2 se les inyectó semanalmente y por vía subcutánea una dosis de 8 mg. de acetato de metil-prednisolona

* Comandante Médico. Jefe del Servicio de Cirugía Infantil. Hospital Militar «Gómez Ulla».

** Capitán Médico. Hospital Militar «Gómez Ulla».

*** Comandante Veterinario. Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental. Hospital «Gómez Ulla».

**** Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto Ramón y Cajal. Madrid.

na, y a los de la serie número 3 se les administró acetato de metil-prednisolona según la misma pauta anterior, además de calcitonina sintética de salmón por vía subcutánea, 20 U.I. dos veces a la semana. Además, tanto los conejos de la serie número 2 como los de la número 3 recibieron tratamiento antibiótico de cobertura con penicilina-benzatina y estreptomina.

Semanalmente se practicaron extracciones de sangre a todos los conejos de la vena colateral de la oreja para determinaciones de calcio, fósforo, colesterol, lípidos totales, transaminasas y fosfatasa alcalinas. Cada semana se sacrificaba un conejo de cada una de las tres series tomándose muestras de hígado, riñones, pulmón, bazo, suprarrenal, corazón y estómago para estudio anatomopatológico. Las muestras, una vez pesadas, se introducían en formol al 10%. Del sistema esquelético se tomaron muestras correspondientes a las zonas medias de las epifisis proximales de húmero y fémur; éstas, tras su fijación con formol neutro al 10%, fueron sometidas a decalcificación. Se procedió con todos los especímenes a su inclusión en parafina, realizándose cortes de 3-6 micras mediante microtomo de rotación que fueron posteriormente teñidos con hematoxilina-eosina, PAS, tricrómico de Masson, Rojo Congo, Giemsa y método de von Kossa para sales cálcicas.

RESULTADOS

En todos los animales de las series números 2 y 3 se apreció en el momento de ser sacrificados una pérdida ponderal que oscilaba entre 100 y 970 g., con una media de 376 g., sin que hubiesen diferencias significativas entre las dos series. En cambio, en la serie número 1 se produjo una discreta ganancia de peso.

Murieron 2 conejos de la serie número 2, a los 11 y 18 días del comienzo de la experiencia, respectivamente, y 2 conejos de la serie número 3, a los 18 y 19 días, todos ellos de neumonía.

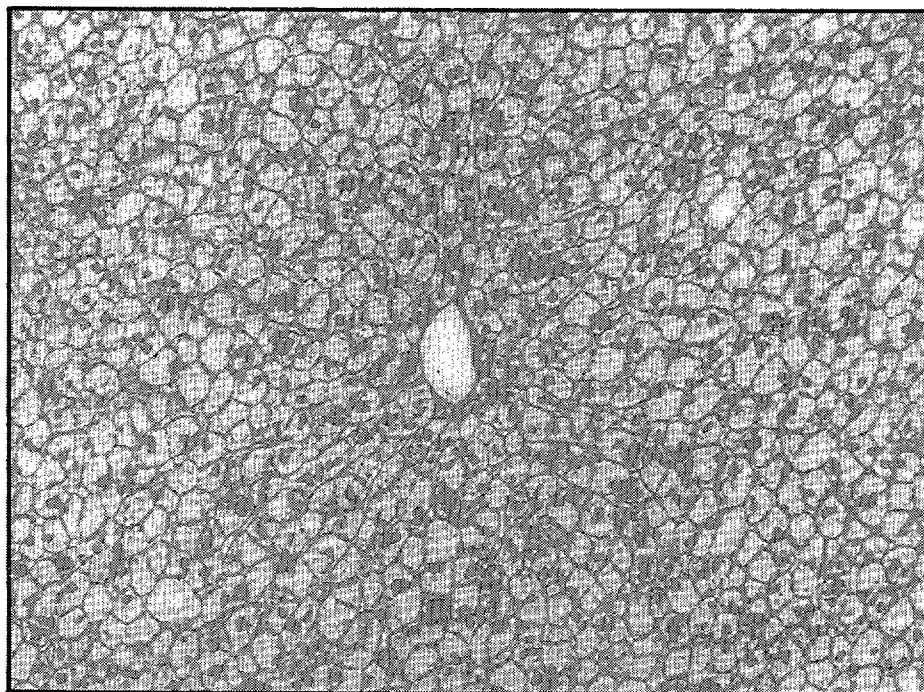


Fig. 1.—Parénquima hepático a nivel centrolobulillar con prominentes fenómenos de balonización hepatocitaria (HE×150).

RESULTADOS ANALITICOS

En la serie número 1 todas las determinaciones fueron prácticamente normales. El calcio y fósforo en sangre no presentaron variaciones significativas en ninguna de las tres series. En cambio se apreció un ligero aumento de las fosfatasa alcalinas en las series números 2 y 3.

Con los resultados obtenidos con las determinaciones de colesterol y tri-

glicéridos se ha confeccionado la gráfica número 1. En ella podemos ver cómo hubo un aumento del colesterol en sangre en las dos series experimentales y un incremento mucho más manifiesto de los triglicéridos, sin que se apreciaran diferencias significativas entre las mismas.

También se puso de manifiesto una gran afectación de las transaminasas SGPT y SGOT en las series números 2 y 3, sin que se apreciaran diferencias

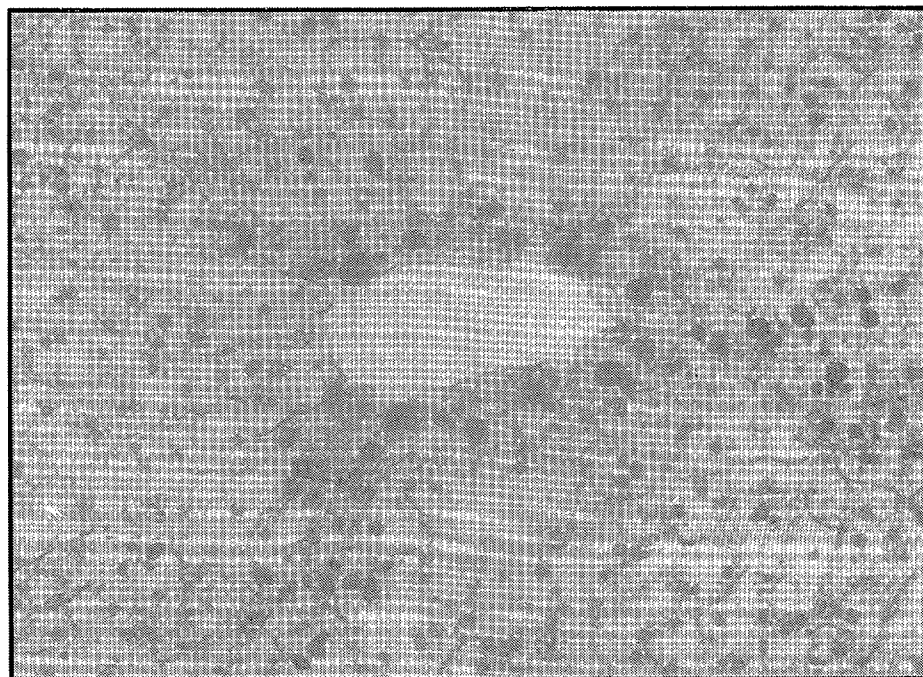


Fig. 2.—Zona centrolobulillar, observándose una metamorfosis grasa moderada del tipo de gota fina confluyente (HE×250).

significativas entre ambas. Ver gráfica número 2.

MICROSCOPIA OPTICA

De modo general podemos decir que en la serie número 1 o testigo todos los resultados fueron prácticamente normales y que no hubieron diferencias ostensibles entre los resultados obtenidos en las series 2 y 3 más que a nivel óseo.

El hígado macroscópicamente aparece en las series 2 y 3 aumentado de tamaño, con coloración pálido amarillenta y de menor consistencia. Además, llamaba la atención la presencia en algunas zonas de un moteado difuso con múltiples manchas blanquecinas, de aspecto gredoso al corte, preferentemente bajo la cápsula de Glisson.

Al estudio microscópico no hubo diferencias significativas entre los dos grupos, apreciándose una importante balonización hepatocitaria (figura

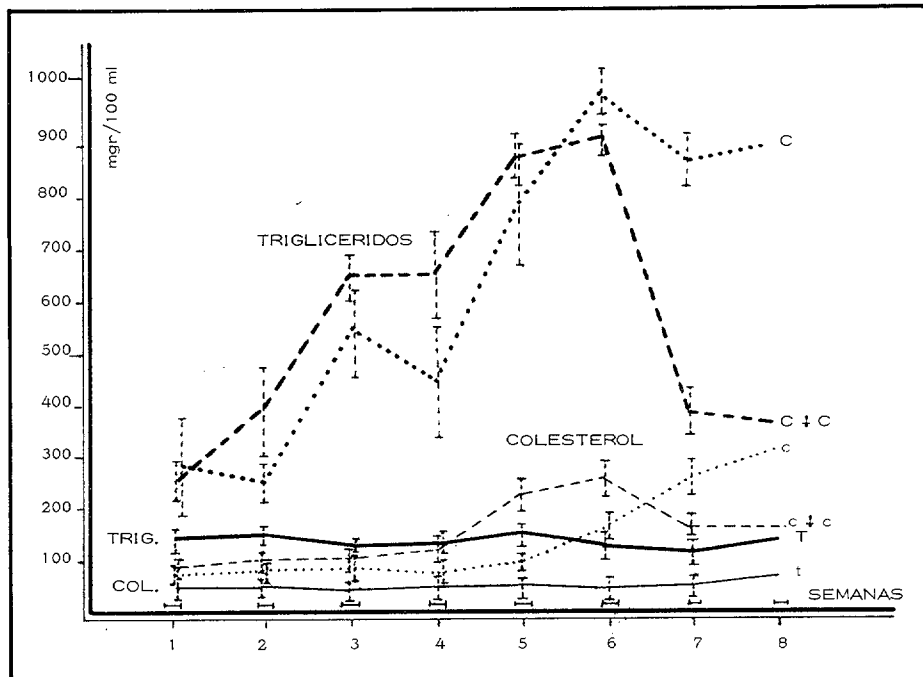


Gráfico 1.—Determinaciones de colesterol (trazo fino) y triglicéridos (trazo grueso) en las tres series. T = Serie testigo. C = Serie número 2 tratada con corticoides. C + C = Serie número 3 tratada con corticoides y calcitonina.

núm. 1), que fue máxima a las 4 semanas de tratamiento. Presentaban un citoplasma muy claro, de contornos muy marcados y núcleo contraído, casi siempre de posición central. No se observa infiltración por ningún tipo de células inflamatorias y no existe fibrosis ni alteración de la trama reticulínica. Los sinusoides aparecen como comprimidos y exangües debido a la balonización hepatocitaria, y todo el parénquima hepático toma el aspec-

to de tejido vegetal (figura núm. 1). También se evidenció metamorfosis grasa de gota gruesa y localización centrolobulillar (figura núm.2).

Posteriormente asistimos a una hialinización de algunos hepatocitos en áreas circunscritas con picnosis nuclear y citoplasma homogeneizado eosinófilo de límites imprecisos. En tiempos posteriores se produce una mayor desintegración de los hepatocitos, con depósito de sales cálcicas (calcificación distrófica) en aquellas zonas descritas macroscópicamente como manchas blanquecinas.

En el estudio de las suprarrenales no se apreciaron modificaciones valora- bles en ninguno de los grupos estudiados. En el bazo tampoco se apreciaron diferencias ostensibles entre las series 2 y 3, y solamente es de destacar el hallazgo en 3 conejos (2 de la serie núm. 2 y uno de la serie núm. 3) de una clara disminución en el tamaño de las zonas centrofoliculares.

El pulmón aparecía como normal en los animales de la serie número 1 y no hubieron diferencias ostensibles entre las series números 2 y 3. En éstas, por lo general, los pulmones aparecían macroscópicamente como abigarrados y en algunos casos se apreciaban zonas enfisematosas. Siete casos fueron diagnosticados de neumonía y en ellos la anatomía patológica nos demostró ensanchamiento de los septos, cuyos intersticios estaban ocupados por polimorfonucleares y algunos macrófagos

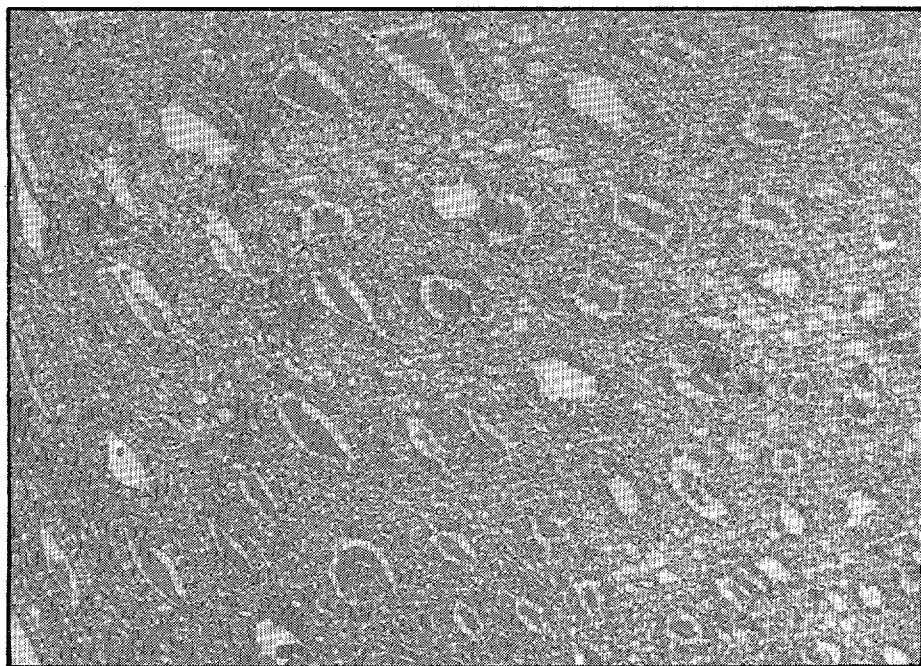


Fig. 3.—Aspecto morfológico del parénquima renal a nivel medular, observándose abundantes cilindros hialinos (HE x 80).

alveolares, imagen que corresponde a una neumonía intersticial aguda. Este cuadro se vio en los 4 conejos autopsiados, en uno de la serie número 2 y en dos de la serie número 3. En el conejo número 7 de la serie 3 se encontró una neumonía en fase de hepatización roja, con pérdida de elementos formes hacia los alvéolos, apreciándose también la existencia de edema agudo de pulmón.

En cuanto a los riñones, los aspectos macroscópicos no ofrecieron lesiones relevantes en las series 2 y 3 ni hubo diferencias significativas en el peso de estos órganos, observándose un discreto aumento del peso medio, que es de 19,23 para las series experimentales, frente a los 17 g. de la serie testigo.

Microscópicamente la arquitectura general del parénquima renal está bien conservada en todos los casos, siendo un hallazgo reiterado en los animales de las dos series experimentales la presencia de cilindros hialinos a nivel de los tubos colectores (figura núm. 3),

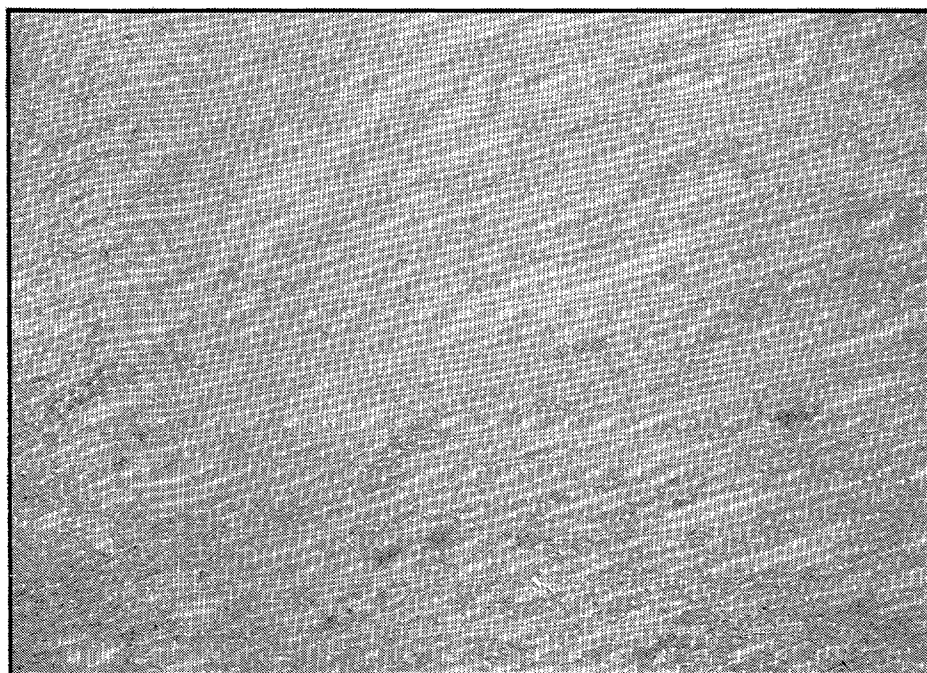


Fig. 4.—Riñón de conejo tratado con acetato de metil-prednisolona en el que puede observarse a nivel de los túbulos colectores y contorneados esférulas positivas al rojo Sudán (Rojo Sudán × 80).

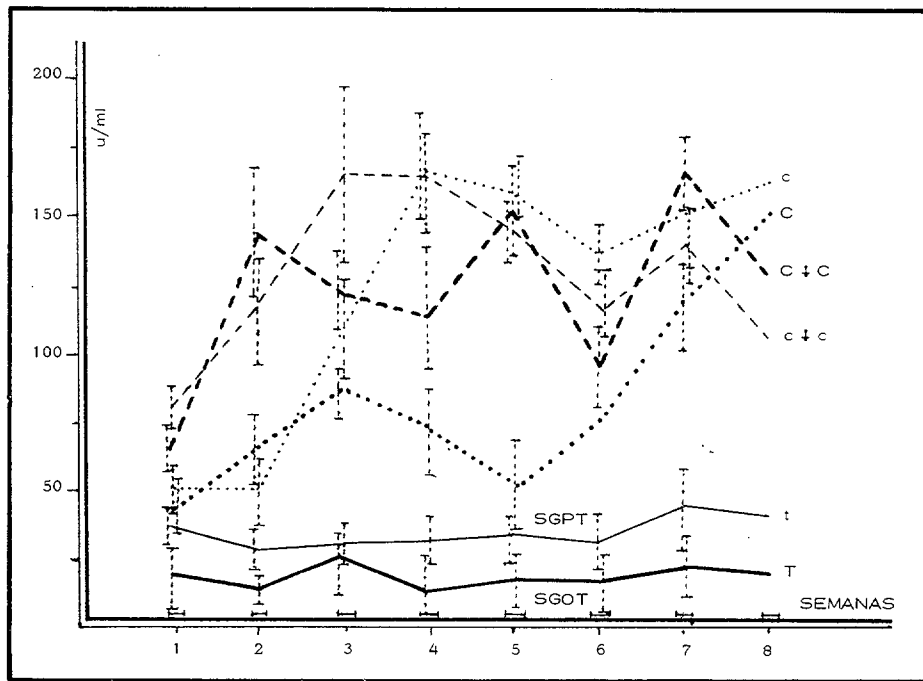


Gráfico 2.—Resultados obtenidos en las determinaciones de transaminasas a lo largo de la experiencia.

así como demostrándose la existencia circunstancial de estructuras esférulas en situación intraluminal a nivel de los tubos contorneados y colectores que demostraron ser positivas con el rojo Sudán (figura núm. 4). Por otra parte, a nivel de los tubos colectores, en las zonas distales de los mismos se visualizaron acumulaciones de células endoteliales descamadas. Coinciden en estas áreas fenómenos de vasodilatación con moderada congestión venosa (figura núm. 5).

En estómago no se apreciaron lesiones valorables en ninguna de las series, no encontrándose ulceraciones. Solamente en tres ocasiones aparecían fenómenos de gastromalacia ácida y, por tanto, no valorables.

En corazón no se apreciaron lesiones dignas de mención.

En cuanto al sistema esquelético, el estudio de las epífisis proximales de fémur y húmero demostró en los animales correspondientes a la serie número 2 una marcada osteoporosis, con disminución en el número de osteoblastos circundantes. En dos de los animales tratados de forma más prolongada se encontraron zonas difusas de infiltración intersticial hemorrágica. En las figuras 6 y 7 puede observarse comparativamente la disminución de espesor trabecular y del número de trabéculas (figura núm. 7) en relación con los animales de la serie control (figura núm. 6). Apréciense la masiva infiltración intersticial hemorrágica de la médula ósea en la figura número 7.

En los animales de la serie número 3 no fueron identificables estas modificaciones y hemos prestado en ellos especial atención al número y morfología de los osteoblastos sin que hayamos encontrado disminución numérica de los mismos ni cambios morfológicos celulares. También se observó una mayor conservación de la estructura ósea (figura núm. 8).

Practicadas mediciones por histofotometría de las trabéculas óseas sub-

condrales en la 3 series, se apreció un claro adelgazamiento de las mismas en la serie número 2 en relación con los animales de las series 1 y 3. Con los valores obtenidos a nivel de la cabeza humeral se ha confeccionado la gráfica número 3. El estudio estadístico mediante la T de Student demuestra que no hay diferencias significativas entre las series 1 y 3, pero sí las hay entre las series 1 y 2 y entre las 2 y 3 para un nivel de confianza del 95%.

Esporádicamente se pudo poner de manifiesto la presencia de microembolias grasas como la que podemos ver en la figura número 9 a nivel de una cabeza femoral.

DISCUSION

En todos los animales de las series experimentales se puso de manifiesto una pérdida de peso que oscilaba entre un 20-30%, hecho que está en consonancia con los resultados obtenidos por otros autores en experiencias similares (23, 35). Este hecho, que aparentemente está en contradicción con el aumento de peso que se observa en la clínica humana al administrar corticoides debido a la retención de sodio (8), podría explicarse por la intensa movilización de los depósitos grasos, gran alteración del metabolismo lipídico (24) y atrofia muscular (29, 34).

La intensa alteración del metabolismo lipídico ha sido ya descrita con anterioridad (15, 21) y condicionaría la intensa hiperlipemia, lo mismo que las embolias grasas, la moderada metamorfosis grasa a nivel hepático y la lipiduria puesta de manifiesto por la presencia de estructuras esferulares intraluminales a nivel de los túbulos contorneados y colectores tingibles con rojo Sudán.

La hiperlipemia y lactescencia del suero se han comprobado reiteradamente tanto en clínica humana (9, 30) como experimentalmente (35, 22), y según Bagdade et al. (1970) (3), se debería a una depleción de los niveles de lipasa de lipoproteína tisulares, de la

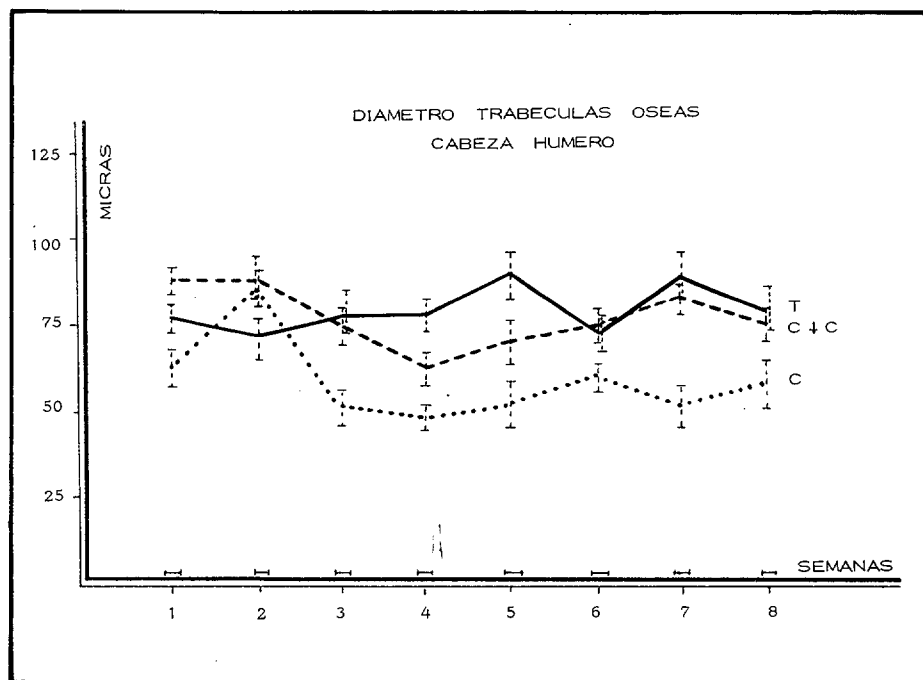


Gráfico 3.—Diámetro de las trabéculas óseas de la cabeza femoral a lo largo de la experiencia. Nótese la diferencia de diámetro de las trabéculas correspondientes a la serie número 2 (C) en relación con los resultados obtenidos en las series número 1 (T) y número 3 (C+C).

que se seguiría un descenso de la actividad lipolítica y un aumento de los triglicéridos circulantes. En nuestra experiencia, la administración simultánea de calcitonina no modifica estos resultados.

En el estudio de las alteraciones hepáticas, el aumento de tamaño de los hepatocitos que provoca la balonización hepatocitaria y confiere al parénquima hepático al aspecto de tejido vegetal parece ser que se debe, además

de a los depósitos grasos (35) a un aumento del contenido en agua, electrólitos, y depósitos hidrocarbonados como ha podido detectarse ultraestructuralmente (19, 38). La administración simultánea de calcitonina tampoco modifica estas alteraciones.

Por otra parte, la inhibición que los corticoides condicionan para las reacciones inflamatorias (6, 16) provocaría, la falta de fenómenos exudativos y proliferativos tanto a nivel del hígado

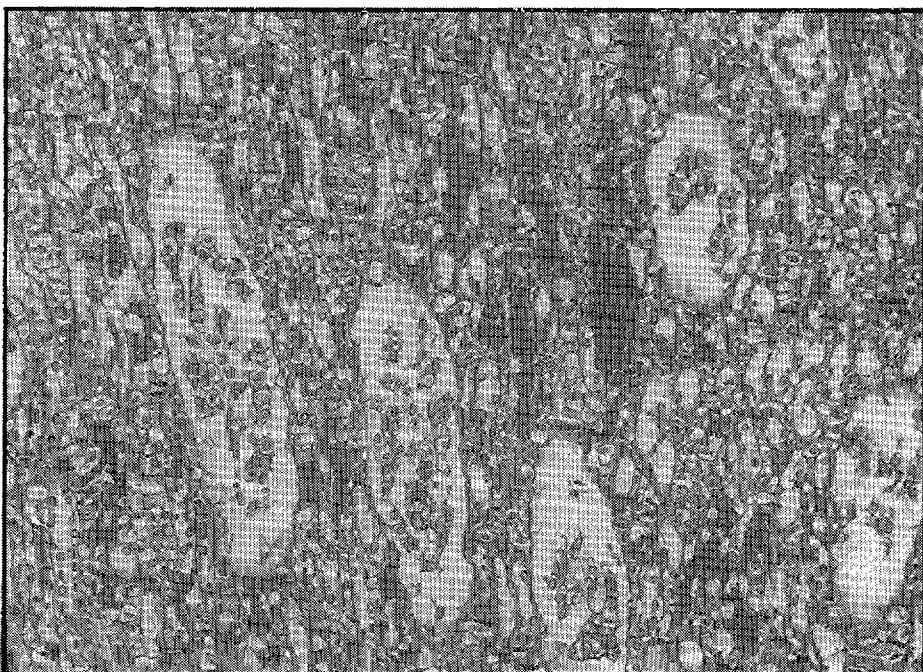


Fig. 5.—Túbulos colectores con abundantes células descamadas en sus luces. Presencia de congestión y vasodilatación (HE x 250).

do como de los restantes órganos estudiados. En hígado la falta de fenómenos alterativos hace que la reacción inflamatoria esté inhibida (6) y condiciona la evolución hacia la calcificación distrófica de las lesiones.

Esta situación de hiporreactividad inmunológica sería la causa de la presentación en algunos casos de una neumonía intersticial, de la que los animales fallecen.

A nivel óseo es donde los efectos de la administración prolongada de corticoides son más manifiestos, traducéndose por una osteopenia que puede llegar a provocar la presentación de fracturas patológicas (5, 7). Este hecho es similar a lo que ocurre en el síndrome de Cushing, en el que la osteopenia constituye una de sus más destacadas características (17, 32), si bien algunos estudios han puesto en evidencia la reversibilidad del cuadro una vez controlado el proceso (Alcia, 1974) (1).

La causa de la osteoporosis por la corticoterapia prolongada es compleja y discutida. Para Rasmusen (1974) (27) se debería a una disminución de la síntesis de colágeno y malabsorción intestinal de calcio. Otros autores conceden una gran relevancia al hecho de que las grandes cantidades de hormona corticosuprarrenal disminuyen los depósitos de proteína en todo el cuerpo y aumentan la catabolia proteínica teniendo efecto específico para disminuir la actividad osteoblástica (18). Klein (1977) (20), en cambio, considera que el mecanismo fundamental sería una disminución de la calcemia debida a una alteración en el metabolismo de la vitamina D y no directamente a una depresión de la absorción transmucal de calcio.

Tanto experimentalmente como en clínica humana, han sido numerosos los intentos terapéuticos para tratar de paliar los efectos de la corticoterapia prolongada. Así se han usado la vitamina D (Williams, 1961) (37) o bien 25-hidroxicolecalciferol (Hahn, 1976) (14), consiguiéndose incrementar la absorción intestinal de calcio y contrarrestar en cierto modo los efectos



Fig. 6.—Tejido óseo esponjoso microscópicamente normal correspondiente a epífisis proximal de fémur (HE $\times 80$).

de la corticoterapia. Jee (1981) (18) ha utilizado con éxito el diclorometano difosfonato en el conejo para inhibir la reabsorción ósea provocada por los corticoides.

La calcitonina, con su triple acción a nivel de la mucosa intestinal, el túbulo renal y el osteoclasto, podría contrarrestar los efectos de la corticoterapia prolongada sobre la calcemia y evitar los efectos secundarios sobre el hueso.

A nivel óseo, el papel de la calcitonina parece ser que se debería a su acción directa sobre el osteoclasto, activando la fosfodiesterasa nucleotídica cíclica y, por tanto, inhibiendo la concentración de AMP cíclico a nivel intracitoplasmático, paralizando de esta forma los mecanismos íntimos de la síntesis enzimática celular y frenándose la reabsorción de calcio por dicho osteoclasto. [Friedman (1965) (10) y Wase (1967) (36)].

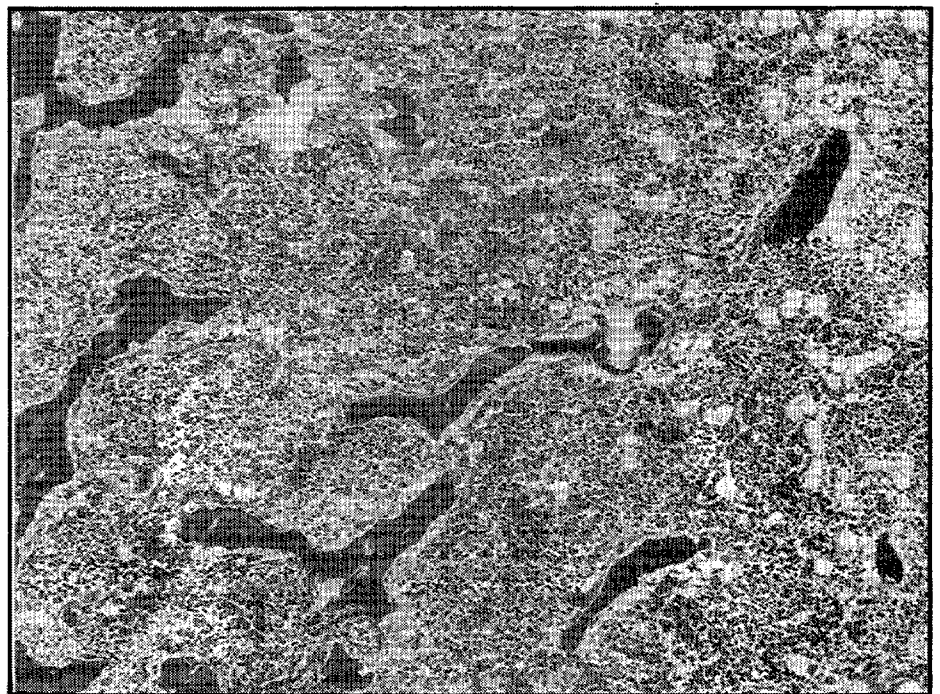


Fig. 7.—Tejido óseo de cabeza femoral correspondiente a un animal intoxicado por acetato de metil-prednisolona, a las 8 semanas de tratamiento. Se aprecia osteoporosis e intensa infiltración intersticial hemorrágica (HE $\times 60$).

En nuestro estudio se ha prestado especial atención al número y morfología tanto de los osteoclastos como de los osteoblastos en las distintas preparaciones de sistema esquelético. El incremento del número de osteoclastos descrito por Frost (1961) (11) después de la corticoterapia prolongada no ha podido ponerse en evidencia, al igual que los posibles efectos sobre los mismos de la administración simultánea de calcitonina. En cambio, sí que ha podido observarse en los conejos tratados con metil-prednisolona una disminución en el número de los osteoblastos tal como describió Jee (1981) (18), y en los tratados simultáneamente con calcitonina no se apreciaban alteraciones ni en el número ni en la morfología de los osteoblastos. Este hecho nos parece muy interesante; no obstante, serán necesarios estudios posteriores para concederle su verdadera significación.

Las mediciones practicadas en las trabéculas óseas ponen de manifiesto cómo la serie tratada con metil-prednisolona presenta una osteopenia que, en cierto modo, se ve contrarrestada al ser tratados simultáneamente con calcitonina. Estos resultados estarían en consonancia con los obtenidos por otros autores tanto experimentalmente [Morgan (1973) (25), Thompson (1972) (33)] como en clínica humana [Palmieri (1974) (26), Briskin (1976) (4)].

CONCLUSIONES

1. La administración de corticoides a altas dosis y con tratamiento prolongado provoca en el conejo un aumento del colesterol y triglicéridos y una serie de alteraciones a nivel de riñón, hígado, etcétera, que no se ven modificadas en absoluto con la administración simultánea de calcitonina.
2. A nivel de las cabezas femoral y humeral, esta corticoterapia

provoca una osteopenia que se puede poner de manifiesto por una disminución en el diámetro de las trabéculas óseas subcondrales que es estadísticamente significativa.

3. La administración simultánea de calcitonina en el conejo tiene un cierto efecto protector, evitando parcialmente la presentación de osteoporosis post-corticoidea.

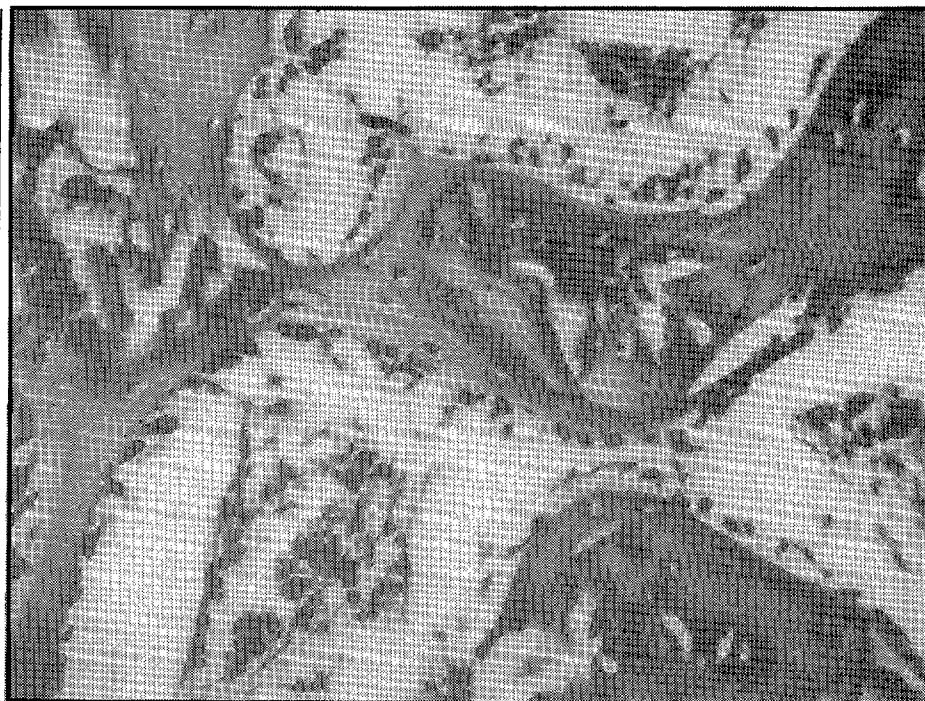


Fig. 8.—Animal tratado con acetato de metil-prednisolona y calcitonina, a las 7 semanas de tratamiento. Obsérvese la ausencia de osteoporosis y la normalidad en cuanto al número y configuración de los osteoblastos (HE x 280).

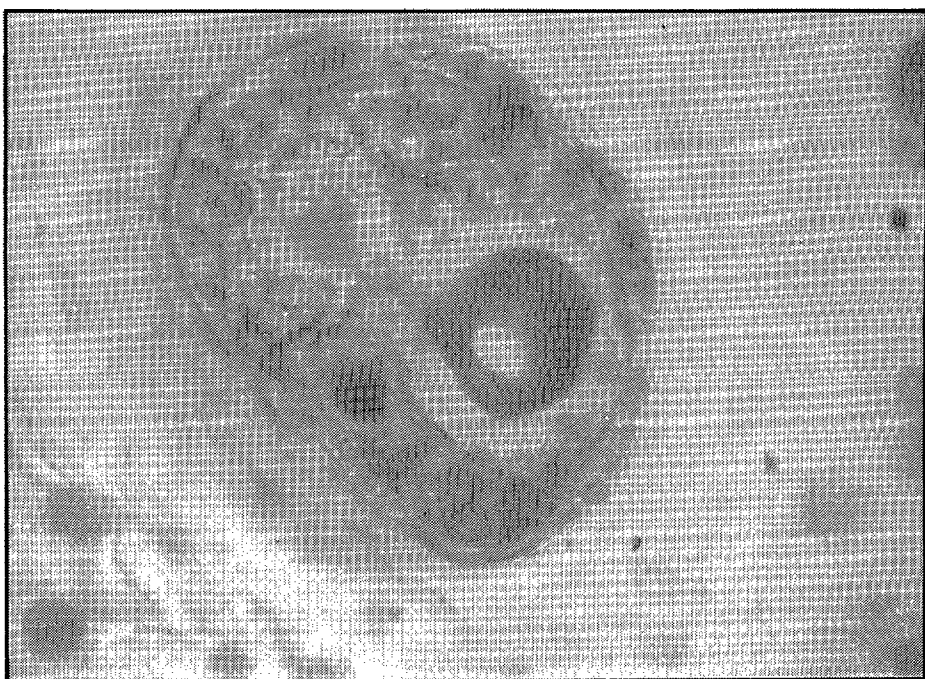


Fig. 9.—Microembolia grasa a nivel de la cabeza femoral en un conejo tratado con acetato de metil-prednisolona (Rojo Sudán x 750).

BIBLIOGRAFIA

1. Aloia, J. F.; Roginsky, M.; Ellis, K.; Shukla, K., and Cohn, S.: «Skeletal metabolism and body composition in Cushing's Syndrome». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1974, 39: 981.
2. Aznar Aznar, A.; López Alonso, A.; Moratino Palomero, P.; Sánchez Domínguez, S.; Lasarte, C.; Bentura, M. L., y Munuera Martínez, L.: «Efectos de la calcitonina sobre la osteoporosis experimental inducida con metil-prednisolona a nivel de la cabeza femoral del conejo». *Rev. Esp. de Cir. Ost.*, 1982, 17: 191.
3. Bagdade, J. D.; Porte, D. Jr., and Bierman, E. L.: «Steroid-induced lipemia». *Arch. Intern. Med.*, 1970, 125: 129.
4. Briskin, A. I.; Dubrov, E., and Strizha Kova, L.I.: «Effektivnost' tirokal'tsionina pri lechenii steroidnogo osteoporoz». *Klinicheskaya Meditsina*, 1976, 54: 80.
5. Curtiss, Ph.; Clark, W. S., and Herndon, Ch.: «Vertebral fractures resulting from prolonged cortisone and corticotropin therapy». *Jama*, 1954, 156: 467.
6. Choppin, J.; Vu-Ngoc-Huyen, and Desplaces, A.: «Etude ultrastructurale du tissu hépatique chez le rat, apres administration d'un steroide amine». *Path. Biol. (Paris)*, 1978, 26: 405.
7. Edstrom, G.: «Destructions of the Hip Joint in Rheumatoid Arthritis during Long-Term Steroid Therapy». *Acta Rheumat. Scandinavica*, 1961, 7: 151.
8. Fernández del Vallado, J.; Gijón Banos, J.; Beltrán Gutiérrez, J.: «Les effets secondaires des steroïdes». *Rheumatologie*, 1964, 7: 323.
9. Fisher D. E., and Bickel, W. H.: «Corticosteroid-Induced Avascular Necrosis. A clinical study of Seventy-seven Patients». *J. Bone Joint Surg.*, 1971, 53 A: 859.
10. Friedman, J., and Raisz, L. G.: «Thyrocalcitonin inhibitor of bone resorption in tissue culture». *Science*, 1965, 150: 1465.
11. Frost, H. M., and Villanueva, A. R.: «Human osteoblastic activity: III. The effect of cortisone on lamellar osteoblastic activity». *Henry Ford Hosp. Med. Bull.*, 1961, 9: 97.
12. Gallagher, J. C.; Aaron, J.; Horsman, A.; Wilkinson, R., and Nordin B. E. C.: «Corticosteroid osteoporosis». *Clinics Endocrinol. Metab.*, 1973, 2: 355.
13. Giuseppe, L., and Rindi, G.: «Influence of adrenal cortex on Thyrocalcitonin content of the rat Thyroid». *Experientia*, 1969, 25: 1099.
14. Hahn, T. J.; Halstead, L. R.; Scharp, C. R., and Hahn, B. H.: «Mineral metabolism and response to 25-Hydroxy-vitamin D therapy in patients with steroid induced osteopenia». *Program of the meeting of the endocrine society (Abstr)*, 1976, 58: 62.
15. Hill, R. B.: «Fatal fat embolism from steroid-induced fatty liver». *N. Engl. J. Med.*, 1961, 265: 318.
16. Holden, M., and Adams, L. B.: «Inhibitory effects of cortisone acetate and hydrocortisone on growth of fibroblasts». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, 95: 364.
17. Howland, W. J.; Pugh, D. G., and Sprague, R. G.: «Roentgenologic changes of the skeletal system in Cushing's Syndrome». *Radiology*, 1958, 7: 69.
18. Jee, W. S. S.; Black, H. E., and Gotcher, J. E.: «Effect of Dichloromethane on Cortisol-Induced Bone Loss in Young Adult Rabbits». *Clin. Orthop.*, 1981, 156: 39.
19. Kimberg, D.; Loud, A.; Wiener, J.: «Cortisone-Induced alterations in mitochondrial function and structure». *J. Cell. Biol.*, 1968, 37: 63.
20. Klein, R. G.; Arnaud, S. B., and Gallagher, J. J.: «Intestinal Calcium Absorption in exogenous hypercortisolism». *J. Clin. Invest.*, 1977, 60: 253.
21. López Alonso, A.; Munuera Martínez, L.; Aznar Aznar, A.; Martínez Tello, F.; Casimiro, C.; Bentura, M. L.: «Observaciones sobre la génesis de la necrosis femoral postcorticoidea. Estudio experimental». Premio extraordinario Queipo de Llano de Investigación de la Secot 1980. *Rev. Ortop. Traum.*, 1982, 26: 7.
22. López Alonso, A.; Aznar Aznar, A.; Montes Duarte, A., y Munuera Martínez, L.: «Modificaciones de los lípidos del tejido óseo en un modelo experimental de necrosis de la cabeza femoral del conejo adulto». *Rev. Esp. de Cir. Ost.*, 1982, 17: 79.
23. Llanes, F.; Azar, A.; López Alonso, A., y Morán, J.: «Lesiones hepáticas en la intoxicación experimental por acetato de metil-prednisolona». *Arch. Fac. Med.*, Madrid, 1981, 39: 145.
24. Morán, T. J.: «Cortisone-Induced Alterations in Lipid Metabolism Morphologic and Serologic Observations in Rabbits». *Arch. Pathol.*, 1962, 73: 300.
25. Morgan, D. B.; Monad, A.; Rusell, R. G. G., y Fleisch, H.: «Influence of dichloromethylene diphosphonate and calcitonin on bone resorption lactate production and phosphate and pyrophosphate content of mouse treated with parathyroid hormona "in vitro"». *Calcif. Tiss. Res.*, 1973, 13: 287.
26. Palmieri G. M. A.; Dvorak, J., and Boitomi, R.: «Calcitonin in steroid-induced osteoporosis». *N. Engl. J. Med.*, 1974, 290: 1490.
27. Rasmussen, H., and Bordier, P.: «The physiological and cellular basis of metabolic bone disease». Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1974, pp. 364.
28. Saville, P. D., and Karmosh, O.: «Osteoporosis of Rheumatoid arthritis: influence of age, sex and corticosteroids». *Arthrit. Rheum.*, 1967, 10: 423.
29. Selye, H.: *Endocrinología*. Salvat Editores, S. A. Barcelona, 1952, pp. 875.
30. Skanse, B.; Von Studnitz, W., and Skoog, N.: «Effect of corticotrophin and cortisone on serum lipids and lipoproteins». *Acta Endocrinol.*, 1959, 31: 442.
31. Smith, K.; Steinberger, E., y Rodríguez-Rigau, L. J.: «Prednisone-therapy and birth weight». *Science*, 1979, 206: 96.
32. Stoffer, L. J.; Innacone, A., and Gabrilove, J. L.: «Cushing's Syndrome: A study of fifty patients». *Am. J. Med.*, 1961, 30: 129.
33. Thompson, J. S.; Palmieri, G. M. A.; Elliel, L. P., and Crawford, R. L.: «The effect of porcine calcitonin in osteoporosis induced by adrenal cortical steroids». *J. Bone Joint Surg. (AM)*, 1972, 54: 1490.
34. Travis, R. H.: «Pathophysiology of syndromes of cortisol excess in man». *Handbook of Physiology*, vol. VI. *Endocrinology*. American Physiological Society, Washington D. L., 1975, 271.
35. Wang, G. J.; Sweet, D. E.; Reger, S. I., and Thompson, R. C.: «Fat-cell changes as a mechanism of avascular necrosis of the femoral head in cortisone-treated rabbits». *J. Bone and Joint Surg.*, 1977, 59 A, 729.
36. Wase, A. W.; Solewski, J.; Rickes, E., and Seidenberg, J.: «Action of thyrocalcitonin on bone». *Nature.*, 1967, 214: 388.
37. Williams, G. A.; Bonser, E. N.; Henderson, W. J., and Uzgiries, V.: «Effects of vitamin D and cortisone on intestinal absorption of calcium in the rat». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1961, 106: 664.
38. Wiener, J.; Loud, A.; Kimberg, D., and Spiro, D.: «A quantitative description of cortisone induced alterations in the ultrastructure of rat liver parenchymal cells». *J. Cell. Biol.*, 1968, 37: 47.