

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica  
Departamento de Bioquímica.— Madrid  
(Director: Prof. A. Santos-Ruiz)

## Estudios metabólicos con Cinc-65

### III. Acumulación de este isótopo en feto y estructuras placentarias de conejo, en función de la edad de gestación(\*)

por

B. Ribas, Isabel Pire, Carmen García del Amo y A. Santos Ruiz

---

(Recibido para publicar el 15 de mayo de 1963)

Como complemento de un trabajo anterior de esta serie (10), damos cuenta en el presente de los resultados obtenidos por nosotros sobre las variaciones de las cifras de Zn-65 encontradas en fetos y estructuras placentarias de conejas, inyectadas por vía intramuscular.

Desde los trabajos de GUILBERT (4) en que señaló que el hígado de los fetos contiene más cinc que el de las madres correspondientes han sido varios los autores que se han ocupado de esta cuestión.

VALLÉE y FLUHARTY (12) fueron los primeros en usar el Zn-65 en el estudio de la gestación, utilizando perros. FEASTER (3) se ocupó de este problema en ratas, inyectando por vía intraperitoneal el Zn-65 y demostrando que este isótopo atraviesa la placenta ya en las primeras fases de la gestación y que la cantidad transferida aumenta al avanzar ésta.

TERRY y sus colaboradores (11), cuyos trabajos aparecieron estando ya en marcha los nuestros, son los únicos que han

---

(\*) Trabajo subvencionado por el Grant SG-SP-113 concedido por el «Agricultural Research Service» del United States Department of Agriculture.

utilizando el conejo para estos estudios. Inyectaron el isótopo por vía intravenosa y encontraron una concentración máxima de Zn-65 en el hígado del feto hacia los 20 días de la gestación. Estudian el paso a través de la placenta, dan cifras, no muy completas, de las variaciones de concentración en algunas estructuras placentarias y la proporción en que desaparece el Zn-65 de la sangre a partir del momento de la inyección.

BALLOU (1) estudió el mismo problema en ratas, suministrando el isótopo por vía oral en distintas formas, y señaló una tendencia de los fetos a concentrar el Zn-65, sobre todo, en estados avanzados de preñez, lo que explica dicho autor, como una demanda general de sales minerales al aumentar el peso. Comparó cifras de madre y fetos encontrando siempre valores más altos en éstos.

MCKENNEY y sus colaboradores (6), usando también la vía oral en ovejas, dan cifras muy bajas en fetos con relación a las encontradas en otros animales y, desde luego, menores que en las madres correspondientes. Estas aparentes contradicciones pueden ser debidas a la naturaleza de cada animal o a la forma de administrar el isótopo.

Estos últimos autores (5), en otro trabajo, encuentran cifras para la retención del Zn-65 en el carnero, muy diferentes según empleen la vía oral en una sola dosis, en dosis repetidas o la vía intravenosa, haciendo la evaluación para el total del cuerpo. Por todas estas razones, nos pareció interesante sistematizar el método, utilizando siempre la misma vía de inoculación, en diferentes animales, ya que la acumulación en los fetos, de Zn-65, que recibe la madre durante la gestación por vía del agua (8) y de los alimentos (7), da actualidad al tema. Este isótopo ha demostrado ser más abundante en las tierras y vegetales en ellas cultivados, que otros isótopos considerados hasta ahora como más peligrosos y abundantes (9).

### Material y métodos

Se utilizaron los fetos y estructuras placentarias, en distintas edades de gestación, procedentes de los animales sacrificados en un trabajo anterior (10). Previa apertura del abdomen, de los cuernos uterinos se separaron: fetos, placenta, decidua, saco vitelino y el líquido amniótico, presente desde el día 12 al 24 del período de gestación.

*Muestras:* a) Debido al escaso peso de las *membranas placentarias*, especialmente en la primera mitad del período gestante, las muestras estaban formadas por las de varias estructuras fetales pertenecientes a la misma madre.

b) En los *fetos*, si pasaban de cierto tamaño, como el adquirido en la 2.<sup>a</sup> mitad del período de gestación, se aislaba uno de ellos, se troceaba y desecaba en estufa a 105-110°. Se homogeneizaba en un Waring y se tomaba una parte alícuota, que se trataba como en trabajos anteriores (10).

c) A intervalos previstos se tomaron muestra de *sangre* de 1 cc, de la vena marginal de la oreja, se comenzó un minuto después de la inyección y se continúa hasta las 24 horas, en que se sacrificó el animal. Estas muestras se recogieron en tubos sobre heparina, como anticoagulante y con suero fisiológico se diluyeron hasta el volumen necesario para ser contadas.

La preparación del isótopo y los métodos de contage son los mismos que en nuestro trabajo anterior (10).

### Resultados

En la Tabla I expresamos en  $\mu\text{c}/\text{gr}$  las medias de las cifras de Zn-65 encontradas en las diferentes estructuras placentarias y en fetos y condensa los resultados de 24 experiencias.

TABLA I

Valores medios de la distribución de Zn-65 en estructuras placentarias y fetos de coneja a distintas etapas de su gestación. Los valores se expresan en  $\mu\text{c}/\text{gr}$ .

Días de gestación	Placenta	Feto	Saco vitelino	Decidua
14	1,231	0,612	1,321	0,845
19	1,779	0,628	1,343	1,428
24	1,483	0,394	0,992	1,256
27	0,967	0,452	0,817	1,325

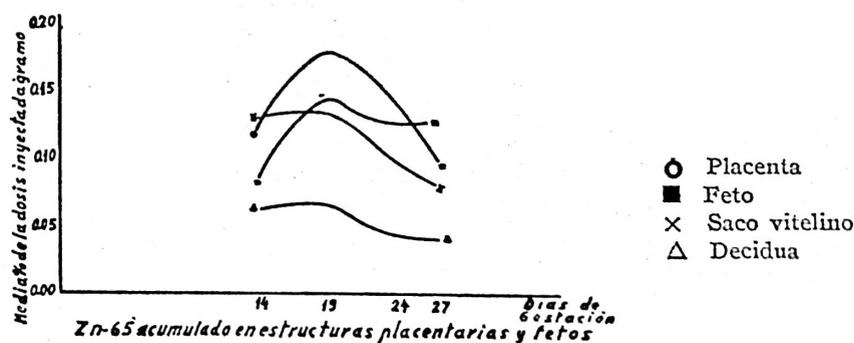


FIG. 1.

A partir de las cuentas por minuto medidas, se calculan los  $\mu\text{c}/\text{gr}$  que damos en dicha tabla.

En la figura 1 damos las medias de los % de la dosis total del Zn-65 inyectado a las conejas, acumulados en distintas estructuras y fetos en función del tiempo de gestación.

En la Tabla II se reúnen los valores más significativos de los casos estudiados. Se comparan las acumulaciones por el total de

TABLA II

*Acumulación de Zn-65 por los fetos, a las 24 horas después de su administración intramuscular.*

Coneja n.º	Días de gestación	Número de fetos	% de Zn-65 recuperado	% de Zn-65 recuperado por feto
7	14	8	2,7	0,337
8	14	9	4,3	0,477
9	14	3	1,5	0,500
11	19	8	5,2	0,650
12	19	9	7,3	0,811
13	19	4	3,7	0,925
14	24	7	6,9	0,985
16	24	5	5,8	1,160
17	24	8	8,2	1,025
18	27	6	7,8	1,300
19	27	8	7,1	0,887
20	27	5	7,7	1,540

los fetos en % de la dosis total administrada y la correspondiente a cada uno de ellos, en las distintas etapas estudiadas.

En la figura 2 comparamos el % de las dosis acumuladas por

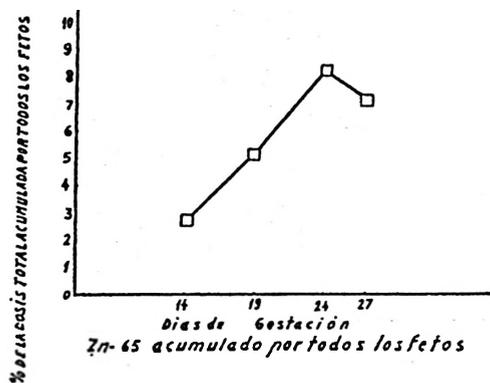


FIG. 2.

la totalidad de los fetos, cuando el número de éstos es constante (8 en el caso estudiado), en distintas etapas de gestación.

En la Tabla III, se reúnen los valores medios encontrados en las determinaciones en sangre, desde el momento de inoculación hasta el sacrificio del animal, en distintas fases de gestación.

TABLA III

Valores medios aproximados en  $\mu\text{c}/\text{cc}$  de los niveles de Zn-65 en sangre, después de su administración por vía intramuscular.

Tiempo	Conejas normales	Conejas en gestación				
		9 días	14 días	19 días	24 días	27 días
2 minutos	0,023	0,023	—	0,019	0,0	0,0
5 "	0,053	0,041	—	0,032	0,092	0,051
10 "	—	0,069	—	0,079	0,164	0,120
14 "	0,68	—	—	0,086	0,099	0,133
37 "	0,083	—	—	—	0,223	0,143
44 "	0,086	0,084	—	0,109	0,210	0,155
1 hora	0,084	0,083	—	0,121	0,209	0,200
3 "	0,058	0,054	—	0,098	0,150	—
5 "	0,045	0,047	—	0,054	0,060	0,068
7 "	0,026	0,042	—	0,032	0,058	0,039
12 "	0,027	0,031	—	0,030	0,032	0,036
16 "	0,019	0,034	—	0,031	0,032	0,029
20 "	0,020	0,033	—	0,030	0,034	0,029
24 "	0,020	0,033	—	0,030	0,033	0,029

En la figura 3 representamos gráficamente las variaciones con el tiempo, en  $\mu\text{c}/\text{cc}$  encontrados en la sangre de conejas normales y gestantes en distintas etapas de gestación y en la figu-

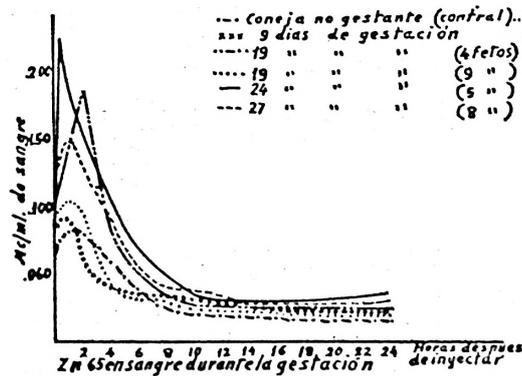


FIG. 3.

ra 4 y a mayor escala comparamos las curvas representativas de dos casos, con los mismos días de gestación y diferente número de fetos engendrados.

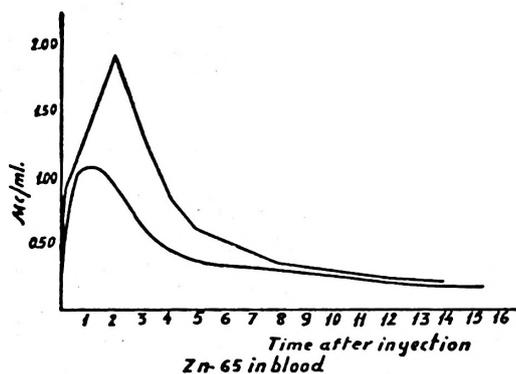


FIG. 4.

### Discusión

En las medidas de radiactividad, efectuadas en membranas placentarias y fetos, los valores encontrados demuestran un paso efectivo del isótopo a través de la placenta, desde la primera etapa de gestación estudiada (Tabla I), de acuerdo con otros autores (1). Las cifras en  $\mu\text{c}/\text{gr}$  aumentan, para disminuir después, presentando un máximo que corresponde aproximadamente a los  $2/3$  del período de gestación (figura 1), lo que está de acuerdo con los pocos datos encontrados en la bibliografía (11), aunque utilizaron vía distinta de inoculación. Pero si se tiene en cuenta que el peso de estas formaciones aumenta con la gestación, es evidente una marcada acumulación de Zn-65 en todas ellas. En la figura 2, en que se considera el tanto por ciento acumulado en los fetos, de la dosis total inoculada a la madre, cuando el número de éstos es constante (8 en este caso), la elevación de la curva es progresiva y casi una función lineal del tiempo de gestación, hasta los 24 días, presentando un descenso brusco, que está de acuerdo con las gráficas de la figura 3, de contenido de Zn-65 en sangre. Estos datos no podemos compararlos con resultados anteriores, pues no hemos encontrado ningún antecedente en la bibliografía revisada.

Sobre la concentración del Zn-65 en sangre y pérdida de radiactividad de este fluido, después de la inoculación, hay datos en distintos animales, pero no gestantes (5), y solamente hemos visto una curva de pérdida de actividad en plasma de fetos de conejo (11), que presenta una semejanza con la parte descendente de

las de la figura 3. Según la Tabla III hay un marcado aumento de radiactividad desde los 2 minutos hasta la primera hora en conejas normales, para descender, alcanzando un nivel casi constante, a partir de la séptima hora. Al avanzar la gestación las curvas se modifican, pero todas presentan un máximo que alcanzó el mayor valor en la curva correspondiente a los 24 días de gestación. Las curvas no son totalmente comparativas, ya que el número de fetos modifica su forma; así en la figura 4 comparamos dos casos de conejas, a los 19 días de gestación, con niveles diferentes, influidas por el número de fetos, probablemente porque cada feto presenta una demanda casi constante (la última columna de la Tabla II) a expensas de la aportación de la sangre y, por tanto, el nivel en ésta es más bajo, al ser mayor el número de fetos. A partir de la hora séptima todas las curvas son sensiblemente paralelas a la presentada por conejas normales, pero los valores están siempre por encima, siendo el máximo, el correspondiente a 24 días de gestación.

### Resumen

Damos cuenta en este trabajo de la presencia de Zn-65 en fetos y estructuras placentarias procedentes de conejas que fueron inoculadas por vía intramuscular con dicho isótopo, lo que demuestra su paso evidente a través de la placenta.

Se estudian las variaciones de acumulación en función de la edad de gestación y se observan curvas distintas para las diferentes estructuras placentarias, observando que influyen en los valores encontrados el tiempo de gestación y el número de fetos.

Se midió la concentración de Zn-65 en sangre, desde el momento de la inoculación hasta el de sacrificio. Se dan curvas de distribución de formas análogas, pero en que los niveles dependen del período de gestación y del número de fetos engendrados.

Se observa que la curva de mayor nivel es la correspondiente al período de 24 días.

### Summary

**Metabolic studies with Zn-65 (III). — Accumulation of this isotope in the foetus and placental structures of rabbits, depending on the stages of gestation.**

As a complement to a previous work on the distribution of Zn-65 in gestating rabbits, we have now studied the passage of this isotope through the placenta and its distribution in the foetus and placental structures, as also the level of Zn-65 in

the blood according to the stage of gestation and the number of foeti generated.

There exist some very interesting studies of Feaster and Ballou on rats and certain data of Terry on rabbits which made us interested in completing them and comparing our results with those of these authors.

We used foeti and placental structures at different stages of gestation. We separated the placenta, decidua, vitelline sac and amniotic liquid, finding that, from the first test (14 days), there is an evident passage of the isotope through the placenta. The figures in  $\mu\text{c}/\text{gr}$ . first increase and then decrease, showing a maximum at two-thirds of the gestation period, which agrees with the findings of other authors who used a different method of inoculation; however, if we take into account the increase in weight of these formations, an accumulation of Zn-65 is evident in all of them.

Comparing the percentage of the total dosage inoculated in the mother, detected in the foeti, when we study cases in which the number is constant (8 in our experiments), we shall see that the accumulation of Zn-65 is, noticeably, a linear function of the gestation period, up to 24 days.

There are data in the bibliography on the concentration of Zn-65 in the blood and loss of radioactivity in this fluid, in connection with different animals in the normal state, but there are none which relate this problem with gestation.

We have determined the concentration curves with regard to time in normal and gestating rabbits, finding that all show an analogous form, reaching a maximum at about forty minutes, but the levels vary according to the stage of gestation and the number of foeti, that of the highest level being that which corresponds to the 24th day. Comparing two cases, of the same «age» (19 days), but with different numbers of foeti, we find two very distinct curves. In that of the lesser number (4 foeti) the maximum level found is approximately double that found in that of the greater number (9 foeti), although the forms of decrease are analogous.

As from the seventh hour, the levels remained noticeably constant in all cases, and the values very similar.

### Bibliografía

- (1) BALLOU, J. E. and THOMPSON, R. C.: *Health Phys.*, **6**, 6, 1961.
- (2) CLINE, J. F.: *Hanford Biol. Research-Annual Report.*, HW-53500, 191, 1958.

- (3) FEASTER, J. P., HANSARD, S. L. and MCCALL, J. T.: *Am. J. Physiol.*, **181**, 287, 1955.
- (4) GUILBERT, F. B.: *Mineral Nutrition of Plants and Animals*, Norman, Okh., Edit. Univ. Oklahoma Press, 1948.
- (5) MCKENNEY, J. R. and col.: *Hanford Biol. Research. Ann. Rep.*, HW-65500, 102, 1960.
- (6) MCKENNEY, J. R. and col.: *Hanford Biol. Research. Ann. Rep.*, H. W., 69500, 469, 1961.
- (7) PALMER, R. F.: *Hanford Biol. Research. Ann-Report*, HW-53500, 189, 1958.
- (8) PERKINS, R. W.: *Science*, **132**, 1895, 1960.
- (9) REDISKE, J. M. and HUNGATE, F. P.: *Proc. Int. Conf. Peacefull. Uses A. E. Ginebra*, **13**, 354, 1955.
- (10) RIBAS, B., PIRE, I., G.<sup>a</sup> DEL AMO, C. y SANTOS RUIZ, A. (En prensa.)
- (11) TERRY, C. W., TERRY, B. E. and DAVIES, J.: *Am. J. Physiol.*, **198**, 303, 1960.
- (12) VALLÉE, B. L., FLUHARTY, R. G. and GIBSON, J. G.: *Acta contra Cancerum.*, **6**, 869, 1949.

