

**FACULTAD DE MEDICINA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**"LITOGENESIS EXPERIMENTAL MEDIANTE  
DERIVACION URINARIA TRANSIGMOIDEA.  
ESTUDIO CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE  
BARRIDO Y MICROANALISIS DE ENERGIA  
DISPERSIVA DE RAYOS X."**

**Tesis que, para optar al grado de Doctor, presenta**

**D. Francisco Javier Castejón Casado,  
licenciado en Medicina y Cirugía.**

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN Medicina

Curso de 1991 a 1992

Folio 131<sup>va</sup>

Número 263

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Francisco J. Cortés Cardo, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente tema, que libremente había elegido: "Fetopueris experimental mediante derivación univesal benignísima. Estudio con Microscopio Electrónico de Barrido y Microanálisis de Cuerpa Después de Rayos X"

Terminada la lectura y contestadas las objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este la calificó de APTO CON LAUDE por unanimidad.

Granada 29 de mayo de 1992

EL PRESIDENTE,

El Secretario del Tribunal,

Fdo.: Antonio Campos

Fdo.: Francisco J. Cortés Cardo

EL VOCAL,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

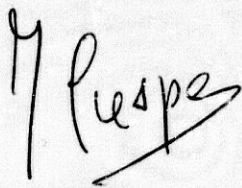
Fdo.: Juan M. García Gil Fdo.: B. Sánchez Salcedo Fdo.: Emilio Blesa Salcedo

FIRMA DEL GRADUANDO.

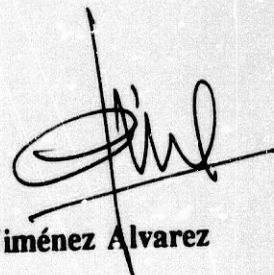
Don **PASCUAL VICENTE CRESPO FERRER**, profesor titular de Biología Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, y Don **CARLOS JAVIER JIMENEZ ALVAREZ**, Jefe de Sección de Cirugía Pediátrica del Centro Maternoinfantil del Hospital General de Especialidades "Virgen de las Nieves" de Granada.

**CERTIFICAN:**

Que Don **FRANCISCO JAVIER CASTEJON CASADO**, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección los trabajos de investigación correspondientes a su Tesis Doctoral "**LITOGENESIS EXPERIMENTAL MEDIANTE DERIVACION URINARIA TRANSIGMOIDEA. ESTUDIO CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO Y MICROANALISIS DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAYOS X**", y que reúne las cualidades necesarias para su presentación y defensa.



Prof. Dr. P.V. Crespo Ferrer



Dr. C.J. Jiménez Alvarez

**Esta Tesis se ha realizado con la ayuda del Proyecto 89/0042  
del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISss).**

**Este trabajo de investigación está dedicado a:**

**M<sup>a</sup> Luisa, David, Alfonso y Laura.**

**AGRADECIMIENTOS**

En el desarrollo de cualquier proyecto de investigación, máxime cuando como en el presente caso, se trata de un estudio multidisciplinario, colabora una gran cantidad de personas, sin cuyo concurso, dicho trabajo no habría podido ser llevado a cabo. Consciente de ello, es por lo que, deseo manifestar mi agradecimiento a todas las personas que han colaborado de forma directa o indirecta a la elaboración de esta Tesis Doctoral. Es así que manifiesto mi gratitud a:

D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ, Catedrático de Biología Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, quien me abrió las puertas de su Cátedra, mostrando un gran interés por el desarrollo de este trabajo. Unido ello a su orientación científica y a su trato, siempre cordial y humano, han posibilitado la realización del mismo.

D. PASCUAL VICENTE CRESPO FERRER, Profesor Titular de Biología Celular en la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, la dirección de este trabajo, así como su inspiración científica y dedicación humana, y sobre todo, su amistad encontrada en el curso de las innumerables horas de trabajo que hemos compartido.

D. CARLOS JAVIER JIMENEZ ALVAREZ, Jefe de Sección del Servicio de Cirugía Pediátrica del H.G.E. "Virgen de las Nieves" de Granada, la dirección de la vertiente quirúrgica de la Tesis, así como el apoyo en la elaboración estadística de los datos y, sobre todo, su compañerismo.

PROFESORES y PERSONAL del Departamento de Biología Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, por la comprensión mostrada hacia mi persona, y sobre todo, a la Srta. M<sup>a</sup> ANGELES VIZCAINO ROBLES, su ayuda y paciencia en el procesamiento de las muestras, y fundamentalmente, por la simpatía y amabilidad que siempre mostró hacia mi persona.

Doña REMEDIOS SANZ SANPELAYO, Jefa del Departamento de Fisiología Animal de la Estación Experimental "El Zaidín" del Consejo Superior de Investigaciones Científicas de Granada, Don JOSE AGUILERA SANCHEZ y Doña EDUARDA MOLINA ALCAIDE, doctores investigadores de dicho Departamento, así como a la Dirección de la Estación Experimental, por la colaboración y facilidades dadas para la realización de este trabajo, posibilitando el desarrollo de su primera fase en sus instalaciones.

D. ADOLFO MARTINEZ CARO, Jefe de Departamento de Cirugía Pediátrica del Hospital Infantil "Virgen del Rocío" de Sevilla y a todos los que fueron mis compañeros en ese Departamento durante el desarrollo de mi especialidad, y sobre todo, a la memoria de ANTONIO CUADRI DUQUE (q.e.p.d.), cuyas enseñanzas médicas y humanas me acompañarán siempre.

D. EMILIO Blesa SANCHEZ, Jefe del Servicio de Cirugía Pediátrica del Hospital Maternoinfantil de Badajoz y Profesor Titular de la Cátedra de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura, por la docencia científica y



humana que impartió conmigo durante los años que trabajamos juntos, así como a mis antiguos compañeros del Servicio de Cirugía Pediátrica de Badajoz.

D. CARMELO SANCHEZ LOPEZ-TELLO, Jefe de Servicio de Cirugía Pediátrica de Granada, por sus enseñanzas y consejos en el desarrollo cotidiano de nuestro quehacer médico, así como a mis compañeros cirujanos y pediatras del Hospital Maternoinfantil de Granada, y muy concretamente, al estamento M.I.R., cuya juventud y empuje constituyen un estímulo en la rutina de la vida hospitalaria.

D. LEOPOLDO MARTINEZ MARTINEZ, estudiante de Medicina y becario de Consejo Superior de Investigaciones Científicas, su inolvidable e inestimable ayuda en las intervenciones quirúrgicas practicadas, así como en el cuidado de los animales y, sobre todo, su perseverancia mostrada a lo largo de todo el trabajo.

A mis hermanos y amigos, porque desde siempre creen en mí.

## INDICE

INTRODUCCION	11
MATERIAL Y METODOS	23
* El animal de experimentación	23
* Grupo experimental	23
* Metodología de la experiencia quirúrgica	24
* Necropsia y obtención del material de estudio	28
* Procesamiento para microscopía electrónica de barrido	30
* Procesamiento microanalítico	31
* Análisis estadístico-matemático	34
RESULTADOS	37
* Introducción. Datos generales	37
* Estudio del contenido litiásico	39
- Incidencia general y distribución	39
- Descripción macroscópica de las piezas	39
- Estudio del patrón morfológico mediante M.E.B.	43
- Estudio de la estructura elemental mediante E.D.A.X.	53
* Análisis estadístico-matemático	54
- Estudio estadístico del parámetro "Peso"	54

- Estudio del parámetro "Mortalidad general y precoz"	54
- Incidencia del fenómeno litogénico	55
- Análisis estadístico resultados microanalíticos	55
TABLAS	58
* Tabla I: Listado general de animales de experimentación	58
* Tabla II: Grupo "Cero"	61
* Tabla III: Diseño experimental	63
* Tabla IV: Incidencia litiasis	66
* Tabla V: M-1 (Análisis general)	67
* Tabla VI: M-2a (Análisis selectivo estructura POLIEDRO)	78
* Tabla VII: M-2b (Análisis selectivo estructura GRANULO)	89
* Tabla VIII: Estudio estadístico del parámetro "Peso"	100
* Tabla IX: Resultados estadísticos CPS Y P/B	101
* Tabla X: Valores estadísticos CPS/Modalidad	112
* Tabla XI: Patrón microanalítico (Corrección ZAF)	113
* Tabla XII: Valores estadísticos índice P/B VS G.E.	116
* Tabla XIII: Hipótesis de contraste poliedro/gránulo	119
GRAFICOS	120
DISCUSION	128
CONCLUSIONES	157
BIBLIOGRAFIA	159

# INTRODUCCION

El término "derivación urinaria interna" constituye la denominación de una técnica quirúrgica consistente en una desviación de la vía excretoria de la orina hacia el tubo digestivo (Hendren 1976-1).

En general, se establecen dos tipos de derivación, según el tramo derivado y la porción digestiva receptora: **ureterosigmoidostomía**, cuando se anastomosan uréteres a sigma, y **trigonosigmoidostomía**, si se trata de anastomosis entre el trigono vesical y el colon sigmoides, pudiendo hablarse indistintamente en ambos casos de "derivación urinaria transigmoidea" (Gosalbez y Garat 1986).

Por otro lado, también existen técnicas de derivación urinaria externas, cuando el flujo urinario es desviado hacia el exterior de la pared abdominal, con o sin el concurso de un fragmento del tramo digestivo (Eckstein, Hohenhellner y colbs. 1977).

La primera derivación urinaria interna que se llevó a cabo en un ser humano fue descrita por Simon en 1852, el cual abocó ambos uréteres de un paciente afecto de extrofia vesical a la porción final rectosigmoidea del tramo digestivo (Simon 1852).

Posteriormente, Coffey introduce el uso del túnel submucoso y logra difundir esta técnica hasta convertirla en el medio de derivación urinaria más usado (Coffey 1911). Desde entonces, otros estudiosos del tema han ido perfilando detalles quirúrgicos y perfeccionando ésta y otras técnicas de derivación urinaria, tanto externas como internas (Cross 1940, Nesbit 1949, Gilchrist, Merricks y colbs. 1950, Harvard y Thomson 1951, Bricker 1955, Goodwin, Harris y colbs. 1953, Goodwin y Scardino 1977, Gil-Vernet 1960/1965, Sullivan, Gilchrist y colbs. 1973, Hendren 1973/74/75/76-1/76-2/78/83, Zinmann y Libertino 1975, Kaswick, Gottesman y colbs. 1978, Itatani y Sonoda 1978, López Pérez, Martínez y colbs. 1981, Wilhem 1982, Lobe 1986).

Actualmente, la derivación urinaria transigmoidea viene realizándose en el ser humano en dos etapas, tal y como preconizan los postulados de Hendren: construcción de un segmento sigmoideo externo con anastomosis ureterosigmoidea y posterior derivación del conducto de colon terminolateral a sigma (Hendren 1976-1).

Por otro lado, las indicaciones de esta técnica quirúrgica pueden enumerarse en la actualidad, según los autores más sobresalientes en el tema, en las siguientes:

- \* Vejiga neurógena por meningocele, mielomeningocele, disrafia espinal, tumores intraespirales, osteomielitis de columna vertebral, paraplejia y agenesia sacra.
- \* Extrofia vesical.
- \* Lesiones pélvicas malignas por neoplasia de vejiga, próstata o vagina, que requieran extirpación total.
- \* Incontinencia urinaria grave en el síndrome de Prune-Belly y otras disfunciones

graves del tracto urinario superior.

\* Cistitis crónica post-radiación o post-quimioterapia y traumas pélvicos graves (Pekarovic 1974, Hendren 1976-2, Eckstein, Hohenhellner y colbs. 1977, Bauer, Colodny y colbs. 1980, Bauer, Colodny y colbs. 1981, Mitchell 1982, Gosalbez y Garat 1986).

El nacimiento y posterior desarrollo en las décadas recientes de la **CIRUGIA PEDIATRICA**, y de la Urología Infantil como parte de la misma, con personalidad y contenido doctrinal propios propiciaron inicialmente el desarrollo de las técnicas descritas más arriba, viéndose pues así aumentado el número de pacientes sometidos a las mismas, aunque en los últimos años nuevas tecnologías encaminadas al tratamiento de la incontinencia urinaria por un lado (Scott, Light y colbs. 1981, Furlow 1981, Light, Hurst y colbs. 1981, Gonzalez y Sheldon 1982, Barret y Furlow 1982/83, Light, Flores y colbs. 1983, Light, Hawila y colbs. 1983, Linder, Kaufmann y colbs. 1983, Light y Scot 1983/84) y al control de las complicaciones derivadas de la existencia de una vejiga neurógena por meningocele u otra etiología por otro lado (Katona y Eckstein 1974, Perlmutter 1980, Mandell, Bauer y colbs. 1980, Bauer, Colodny y colbs. 1980, Bauer, Retik y colbs. 1980, Bauer, Colodny y colbs. 1981, Jeffs, Jonas y colbs 1981, Kass, Koff y colbs. 1981, Aragona, Martinez y colbs. 1982, Guzman, Bauer y colbs. 1983, Garat, Aragona y colbs. 1985, Mollard 1985), junto al mejor conocimiento de las complicaciones susceptibles de aparecer en los enfermos derivados a corto, medio y largo plazo, han propiciado una disminución progresiva en el uso de estas técnicas quirúrgicas, que han ido siendo sustituidas progresivamente por procedimientos menos invasivos en el tratamiento de las afecciones causales (Barret y Furlow 1982/83, Light y Scot 1983/84, Webster y Sihelnik 1984).

Como consecuencia del desarrollo inicial de la técnica, comenzaron a detectarse pues, mediante el análisis de amplias casuísticas, las complicaciones potenciales susceptibles de desarrollarse tras la aplicación de este tipo de cirugía. A este respecto, fueron descritas complicaciones metabólicas, infecciosas y tumorales benignas y malignas, así como la aparición de *fenómenos litogénicos* en los pacientes sujetos a técnicas de derivación urinaria (Wear y Barquin 1973, Kelalis 1974, Morales y Golimbu 1975, Corbett y Lloyd-Davies 1976, Gregoir y Schulman 1978, Aaronson y Morgan 1979, Schulmann 1979, Libertino y Zinman 1982).

Con respecto a las primeras, ya en 1931 Boyd describió los trastornos bioquímicos de las anastomosis ureterocólica (Boyd 1931), aunque esta complicación no fue reconocida formalmente hasta la publicación de los trabajos de Ferris y Odel (Ferris y Odel 1950). En este sentido, el patrón bioquímico-metabólico de los pacientes portadores de una derivación urinaria interna ha sido descrito por estos autores con las siguientes características: acidosis hiperclorémica, hipopotasemia, uremia e hiperamonemia (Ferris y Odel 1950, Parson, Powel y colbs. 1952, Heidler, Marberger y colbs. 1979). McConell y colbs. atribuyen estas alteraciones a la insuficiencia renal y, sobre todo, a la reabsorción de metabolitos urinarios por la mucosa del colon (McConell, Murison y colbs. 1979). Recientemente, Núñez y colbs. han estudiado este fenómeno a nivel experimental, reproduciendo en ratas de laboratorio este mismo patrón bioquímico, encontrando además hipoalbuminemia (Núñez, Blesa y colbs. 1987), comprobando de forma simultánea la reversibilidad de estas alteraciones al someter a los animales a una desderivación quirúrgica (Ramos, Núñez y colbs. 1989).



Con respecto a las complicaciones infecciosas detectadas tras la práctica de este tipo de técnica quirúrgica, la pielonefritis aguda y/o crónica ha sido objetivada en este tipo de pacientes (Bakker, Van Damme y colbs. 1976, Corbett y Lloyd-Davies 1976, Silverman, Woodhouse y colbs. 1986), habiéndose atribuido a un fallo del sistema antirreflujo ureterocólico, que induciría contaminaciones ascendentes de las vías urinarias superiores por contenido fecal, extremo evidenciado tanto a nivel clínico (Spence, Ireland y colbs. 1971, Spence, Stewart y colbs. 1972, Shapiro, Lebowitz y colbs. 1975, Zincke y Segura 1975), como experimental (Braude y Siemenski 1960, Kass 1963, Richie, Skinner y colbs. 1974, Núñez, Sanjuán y colbs. 1987, Koch, McDougal y colbs. 1991).

Referente al fenómeno tumorogénico observado en estos pacientes, la aparición y ulterior evolución de tumores benignos o malignos, ubicados en las anastomosis digestivourinarias, éste constituye la complicación potencial más grave subsecuente a la práctica de la derivación urinaria transigmoidea (Riches y Page 1956, Markowitz y Koontz 1966, Lein 1973, Thank, Karsch y colbs. 1973, Dube, Perreault y colbs. 1973, Eraklis y Folkman 1978, Leabdetter, Zickermann y colbs. 1979, Zander y Segura 1983, Castiñeiras, López y colbs. 1988, Nurse y Mundy 1989). A este respecto, el primer caso descrito en la literatura médica de neoplasia secundaria a derivación ureterocólica se debe a la aportación de Hammer, quien en 1929 apuntó dicho diagnóstico en un paciente 10 años después de practicarle una derivación por extrofia vesical (Hammer 1929). Desde entonces y hasta la actualidad se ha descrito un número progresivamente creciente de casos de tumores benignos (Dunn, Roberts y colbs. 1979, Ansell y Vellacot 1980, Cipolla y García 1984, Muffed, Mohammed y colbs. 1984, Qvist, Kronborg y colbs. 1986,

Ferguson, Balfour y colbs. 1988, Stillwell y Myers 1988) y malignos (Urdaneta, Diffell y colbs. 1966, Dube, Perreault y colbs. 1973, Mogg 1977, Harford, Fazio y colbs. 1984, Stewart 1986, Meretyk, Landau y colbs. 1987, Rosvanis y Rohner 1989, Daher, Abourachid y colbs. 1989, Filmer y Spencer 1990), desarrollados en las confluencias mucosas digestivo-urinarias de forma paralela a la realización cada vez más numerosa de este tipo de técnicas quirúrgicas.

La otra complicación potencial descrita más arriba, referida a los enfermos sometidos a técnicas de derivación urinaria transigmoidea, la constituye la aparición de litiasis urinarias (Williams, Burholder y colbs. 1969, Kelalis 1974, Dunn, Roberts y colbs. 1979), la cual, según refieren diversos investigadores, llega a objetivarse en el 10% de los pacientes intervenidos (Jacobs y Stirling 1952, Zincke y Segura 1975), habiéndose atribuido al estasis urinario y la pielonefritis recurrente (Dretler 1973).

La observación clínica del fenómeno litiásico detectado en este tipo de pacientes ha dado lugar en los años recientes al establecimiento de modelos de experimentación animal con la finalidad de estudiar aspectos concretos de la litogénesis (Núñez, Sanjuán y colbs. 1987). No obstante, el estudio de este fenómeno ha sido igualmente desarrollado mediante otras técnicas asimismo válidas en cuanto inductoras de la formación de estructuras litiásicas (Shimamura 1987-1/87-2, Takahasi, Okada y colbs. 1988).

La utilización de animales mamíferos para el desarrollo de modelos extrapolables al ser humano se considera actualmente idóneo, ya que las características descritas para los mismos, desde el punto de vista fisiológico (Castejón, Fraile y colbs. 1979, Hill 1980),

anatómico (Hebel y Stromberg 1976, Devillers y Clarimbault 1977, Romer y Parsons 1981) y ultraestructural (Hodgson 1968, Swift y Marsh 1968, Balcerzak, Lane y colbs. 1970, Clark y O'Connell 1973, Hodges, Muir y colbs. 1973, Noack, Jacobson y colbs. 1975, Hicks 1975, Hicks y Wakefield 1976, Wong y Martin 1977, Tannenbaum, Tannenbaum y colbs. 1978), según han descrito los estudiosos del tema, son superponibles a las características del ser humano.

Así pues, en virtud del desarrollo de tales modelos, el fenómeno litiásico es susceptible de reproducción experimental en animales de laboratorio (Vermeulen, Lyon y colbs. 1964, Vermeulen, Ellis y colbs. 1966). En este sentido, la inducción experimental de fenómenos litogénicos se ha desarrollado sobre diversas técnicas, no exclusivamente de índole quirúrgica, como las aportadas por Núñez y colbs., descrita más arriba (Núñez, Sanjuán y colbs. 1987), o por Shimamura y colbs, los cuales, ubicando cuerpos extraños en vías urinarias, a nivel vesical, determinaban la aposición de sustancias sobre dichos cuerpos extraños con el consiguiente fenómeno litogénico (Shimamura 1987-1/87-2). Así pues, Khan y colbs. han desarrollado técnicas de inducción litogénica sobre modelos basados en una alteración de la concentración urinaria (Khan, Finlayson y colbs. 1983), mientras que Takahasi y colbs. han añadido a la manipulación quirúrgica, la administración intravesical de microorganismos en vejiga (Takahasi, Okada y colbs. 1988), destacando en este sentido la inducción experimental de litiasis infecciosas generadas tras la administración intravesical de proteus mirabilis llevada a cabo por Rottschaefter y colbs. (Rottschaefter, Sax y colbs. 1970) o las litiasis oxamídicas estudiadas por microscopía electrónica e inducidas químicamente por Terhorst y colbs (Terhorst y Buss 1974).

Las observaciones clínicas sobre el fenómeno litogénico, junto a los modelos recientemente desarrollados en el campo de la inducción experimental de estructuras litiásicas, han constituido conjuntamente el punto de partida de diversas líneas de investigación encaminadas a dilucidar los mecanismos íntimos que influyen o determinan la aparición del fenómeno litogénico (Chute y Suby 1943, Prien y Frondel 1947, Carr 1956, Elliot, Sharp y colbs. 1959, Pitts 1964, Sutor 1968, Guillen Cavero 1970-1/70-2, Aboulker, Bernard y colbs. 1971, Stamey 1972, Guillen Cavero 1972/73, Thomson y Syamey 1973, Griffith, Musher y colbs. 1973, Prawerman 1974, Fleisch 1974, Sutor 1975, Berg, Hesse y colbs. 1976, Griffith, Musher y colbs. 1976, Griffith 1978, Fleisch 1978, Thomas, Rodriguez y colbs. 1978, Asper y Schmuki 1979, Hallson y Rose 1979, Gaussin, Olivieux y colbs. 1979/80, Konjiki, Sudo y colbs. 1980, Werness, Bergert y colbs. 1981, García de la Peña y Cifuentes 1981, Barrat 1982, Aguilar, Rodriguez y colbs. 1984, Rodriguez Rebollo, Torres y colbs. 1984, Osborne, Polzin y colbs. 1985, Zuluaga, Torres y colbs. 1986, Robertson 1986).

En esta misma línea de investigación del fenómeno litogénico, actualmente se vienen desarrollando nuevas técnicas de identificación y estudio de las estructuras litiásicas, destacando a este respecto la reciente incorporación de la microscopía electrónica de barrido orientada al estudio y determinación del patrón morfológico de la estructura considerada. Así pues, la primera microfotografía de una concreción renal obtenida con el microscopio electrónico de barrido es de Carr, presentada en el Symposium de Leeds en 1968, y publicada en 1969 (Carr 1968). No obstante, después de Carr, respecto a la microscopía electrónica de barrido, el desarrollo de la técnica aplicada

al estudio de las urolitiasis corresponde casi por igual a investigadores españoles (Somacarrera y Alonso 1972, Alonso y Somacarrera 1972/73/76, Cifuentes, Carmona y colbs. 1977, Cifuentes y Santos 1977, Cifuentes, Bellanato y colbs. 1978, Cifuentes 1984) y norteamericanos (Boyce 1972-1/72-2, Bailey 1972, Rodger 1981, Otnes 1983, Rodger 1985). Dosch y Koestel publicaron la primera revisión amplia del aspecto de cálculos de diversos tipos observados con el microscopio electrónico de barrido (Dosch y Koestel 1975-1/75-2, Dosch 1980, Dosch y Eisen 1980). Desde 1974, este método de observación ultraestructural es adoptado por más investigadores. Así, en Alemania, Bastian y Gebhardt lo aplican al estudio del fenómeno litogénico (Bastian y Gebhardt 1975/79), Spector y colbs revisan la morfología de los fosfatos amorfos y cristalinos (Spector y Jameson 1976, Spector, Garden y colbs. 1978), destacando asimismo los trabajos aportados por Hesse y colbs (Hesse, Schneider y colbs. 1973, Hesse, Lange y colbs. 1977, Hesse, Lange y colbs. 1979, Hesse, Berg y colbs 1979, Hesse, Hocking y colbs. 1980/81, Hesse y Bach 1982), Blomen (Blomen 1981), Kennoki (Kennoki, Mizuhira y colbs. 1978), Leusmann (Leusmann 1983, Leusmann, Meyer-Jurgens y colbs. 1984), Phaneuf-Mimeault (Phaneuf-Mimeault y Tawashi 1977), Meyer (Meyer, Finlayson y colbs. 1971) y Faure (Faure, Netter y colbs, 1980), Meyer (Meyer 1971), Kim (Kim 1982, Kim, Resau y colbs 1982) y Khan (Khan y Hackett 1986/87).

De forma paralela y mediante el uso de un sistema de energía dispersiva de rayos X, vienen desarrollándose técnicas encaminadas al estudio microanalítico de la estructura química con la finalidad de determinar su composición química elemental. El primer análisis espectrométrico de cálculos urinarios mediante el uso de rayos X fue aportado por Mathies en 1967 (Mathies y Lund 1967), a pesar de lo cual, su uso en este sentido ha sido

muy esporádico hasta hace pocos años tanto en el campo clínico como experimental (Chambers, Hodgkinson y colbs. 1972, Panessa 1974, Kim 1979, Rodger 1981, Kim 1982, Panessa 1983, Kim, Resau y colbs. 1984, Fukuda, Tanaka y colbs. 1984, Rodger 1985, Baker, Kupke y colbs. 1985).

De una u otra manera, como afirma Terzakis, la identificación de todo material extraño procedente de la patología quirúrgica mediante el uso del microscopio electrónico de barrido está ganando popularidad día a día (Terzakis 1985), orientándose las actuales líneas de investigación en este campo al uso combinado de ambas técnicas: la identificación del patrón morfoestructural considerado por microscopía electrónica de barrido y la determinación de su estructura química elemental por el sistema de energía dispersiva de rayos X (Kennoki, Mizuhira y colbs. 1978, Boeckestein, Stols y colbs. 1980, Boeckestein, Stadhoulder y colbs. 1983, Crawford 1984, Khan y Hackett 1986/87, Navarro, Campos y colbs. 1990, Griffin y Nockolds 1991, Gupta 1991, Ostrowski y Sklodowska 1991).

En este sentido, como afirma Kim la aplicación de la microscopía electrónica de barrido siempre se halla sujeta a la experiencia visual subjetiva del observador, obviándose esta clara limitación al efectuar el análisis estructural de la sustancia en estudio con el sistema de energía dispersiva de rayos X (Kim, Resau y colbs. 1984)

No obstante, en el análisis cuantitativo de los componentes constitutivos de una estructura mineral o cristalina, según se infiere del estudio combinado por microscopía electrónica de barrido y microanálisis por energía dispersiva de rayos X, aún cuando se

le reconoce una amplia fiabilidad, se han detectado factores físico-matemáticos capaces de distorsionar el resultado final (Reed 1971, Love, Cox y colbs. 1975/76/78, Fuchs, Brombach y colbs. 1978, Hess 1980), lo que ha motivado la introducción de constantes correctoras en el mismo, en orden a asegurar una mayor exactitud de los resultados obtenidos con su aplicación (Staham 1978/79, Boekestein, Stols y colbs. 1980, Boekestein, Stadhouders y colbs. 1983).

Así pues, de todo lo anteriormente reseñado en esta "Introducción" se deduce que la investigación del fenómeno litogénico hoy día no se concibe sino mediante un enfoque multidisciplinario que abarque aspectos muy diversos, dado que, como ya se ha referido, mientras que la aplicación de ciertas técnicas quirúrgicas u otro tipo de manipulaciones farmacológicas, son capaces de inducir la litogénesis, no es menos cierto que el uso de tecnologías de reciente desarrollo como la microscopía electrónica de barrido y el microanálisis mediante energía dispersiva son potencialmente capaces de aportar datos valiosos para enriquecer el conocimiento de dicho fenómeno.

La presente TESIS DOCTORAL, tras las consideraciones anteriormente efectuadas, tiene por objeto fundamental establecer los patrones morfoestructurales y microanalíticos detectables en un modelo quirúrgico de litogénesis experimental basado en la realización de una vesicosigmoidostomía terminolateral con ligadura de uretra, el cual constituye la réplica experimental de la derivación urinaria interna más frecuentemente usada en Cirugía Pediátrica. Tales patrones morfoestructurales y microanalíticos serán estudiados en los primeros 6 meses de latencia postquirúrgica. Los primeros serán determinados mediante microscopía electrónica de barrido, mientras que el estudio microanalítico de los elementos

constituyentes de las estructuras litiásicas se efectuará mediante un sistema de energía dispersiva de rayos X.

La etapa evolutiva considerada en esta Tesis -los 6 primeros meses de latencia postquirúrgica- constituye, como se deriva de los antecedentes descritos, una fase en la que confluyen claramente los factores esenciales que van a determinar las complicaciones litiásicas susceptibles de presentarse en la unión vesicocólica establecida artificialmente mediante el modelo quirúrgico explicitado.

Para el desarrollo de la presente Tesis describiremos en un primer capítulo el "Material y Métodos" empleados, haciendo hincapié en la metodología quirúrgica, así como en la referida a la microscopía electrónica de barrido y la determinación microanalítica mediante rayos X.

En un segundo capítulo expondremos los "Resultados" obtenidos en el desarrollo de nuestro modelo experimental, y posteriormente desarrollaremos una "Discusión" de los mismos en relación con los datos existentes en la bibliografía, para finalmente emitir las "Conclusiones".



MATERIAL  
Y METODOS

---

## **EL ANIMAL DE EXPERIMENTACION**

El animal de experimentación sobre el que se han realizado las experiencias ha sido la rata hembra de raza Wistar, que era introducida a los 20-25 días de su nacimiento, inmediatamente tras el destete, en jaulas individuales, construidas al efecto con metacrilato y acero inoxidable, provistas de un mecanismo de pipeta, para beber agua "ad libitum", así como de un reservorio de pienso específico y un receptáculo inferior para la recogida de material excretado.

La experiencia ha tenido en cuenta durante su desarrollo las normas contenidas en el "Diario Oficial de las Comunidades Europeas" de fecha 20 de febrero de 1990, que regulan el uso de modelos animales en experimentación biológica, a efectos de evitar crueldades inútiles y objetivos no biomédicos de la investigación.

## **GRUPO EXPERIMENTAL**

Han sido intervenidos un total de 62 animales hasta completar el diseño experimental especificado más abajo, habiéndose desechado para su procesamiento ulterior

32 de los mismos, por razones de mortalidad precoz. Los animales procesados incluidos en el grupo experimental final (n=30) han sido clasificados en orden a su ulterior estudio en función de su supervivencia postoperatoria o latencia postquirúrgica de desarrollo lesional, habiéndose considerado a este respecto los grupos experimentales especificados en la tabla siguiente:

<u>G.E.</u>	<u>INTERVALO I/E</u>	<u>n (30)</u>	
C	0 días	5	G.E. = Grupo experimental
I	15-30 "	5	I/E = Intervención/Exitus
II	30-60 "	5	n = nº de elementos
III	60-90 "	5	
IV	90-120 "	5	
V	>120 "	5	

### METODOLOGIA DE LA EXPERIENCIA QUIRURGICA

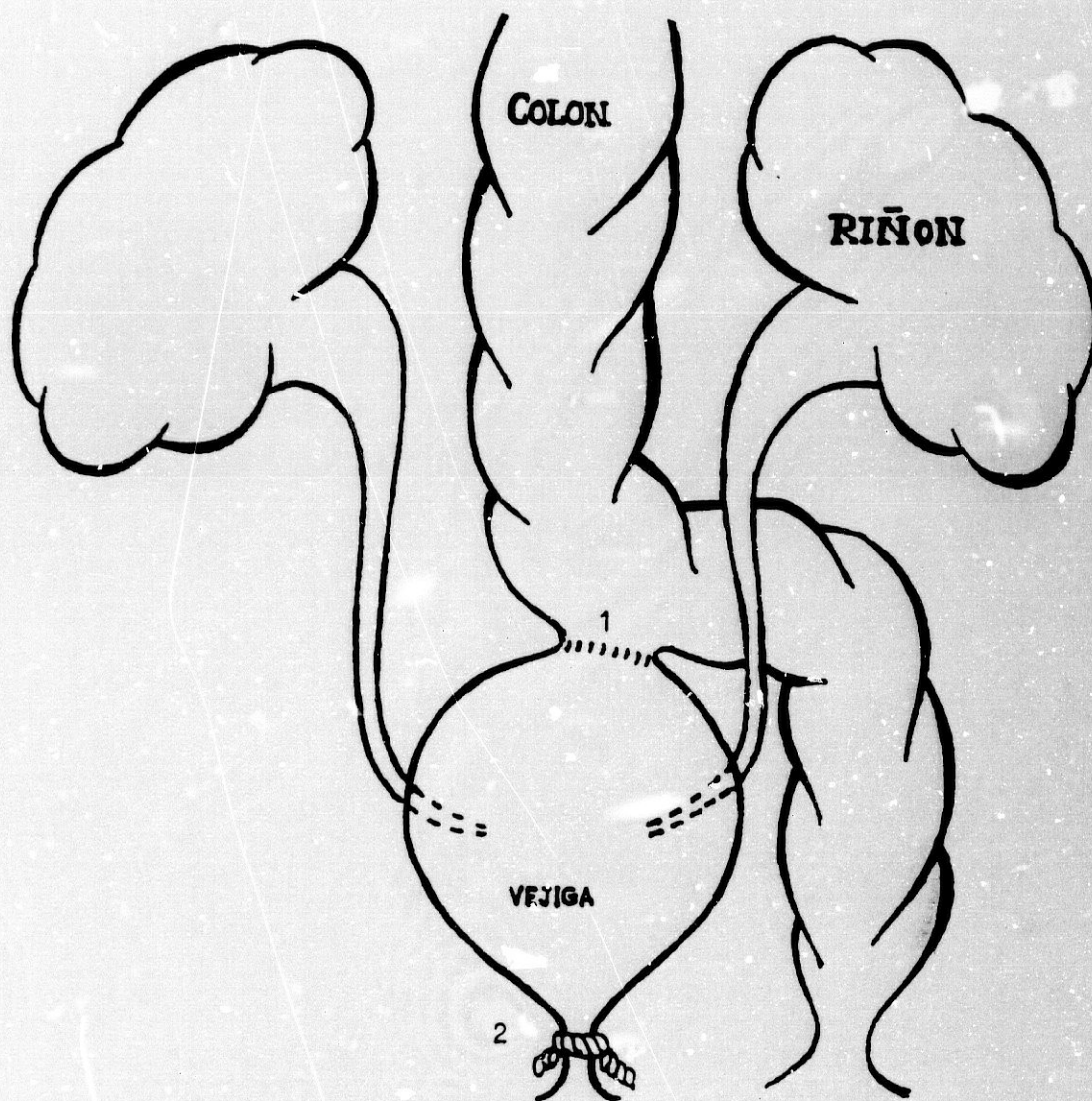
Quando el animal alcanzaba un peso entre 100 y 250 gramos aproximadamente, se consideraba apto para la experiencia, procediéndose desde 24 horas antes de la intervención a privarle de pienso alimenticio, aún cuando se le permitía seguir bebiendo agua "ad libitum", con la doble finalidad de mantener el estado de hidratación y disminuir en lo posible el contenido sólido intestinal.

La técnica anestésica ha comprendido una primera fase de inducción por el método de la campana con éter al 10%, y una segunda fase de mantenimiento de los niveles de profundidad anestésica con mascarilla impregnada en éter. De forma previa al inicio de la intervención, se procedía a pesar al animal en una báscula de precisión.

Desde un punto de vista técnico-quirúrgico, se ha practicado a todos y cada uno de los animales una derivación urinaria transigmoidea, consistente en una vesicosigmoidostomía terminolateral seguida de ligadura de uretra, habiéndose precisado para ello instrumental de microcirugía y gafas binoculares de aumento marca Shin-Nippon, comprendiendo la intervención las siguientes fases (Figura 1a y 1b):

- \* laparotomía media, previa aplicación de solución antiséptica (Betadine), con apertura progresiva de tegumentos y planos musculares, hasta cavidad peritoneal.
- \* Exteriorización de asas intestinales y movilización de vejiga.
- \* Identificación de cúpula vesical y borde antimesentérico de colon sigmoides, a efectos de anastomosis posterior.
- \* Apertura de un ojal en cúpula vesical y otro en la región referida de colon sigmoides.
- \* Anastomosis vesicosigmoidea con sutura de poliglactin (Vicryl) de 6/0, por delante de trompas uterinas.
- \* Ligadura de uretra con un cabo de ácido poliglicólico 4/0 (Dexon).
- \* Cierre de laparotomía en dos planos con ácido poliglicólico (Dexon) 4/0.

**Figura 1a:TECNICA QUIRURGICA**



**1. ANASTOMOSIS VESICOCOLICA**

**2. LIGADURA DE URETRA**

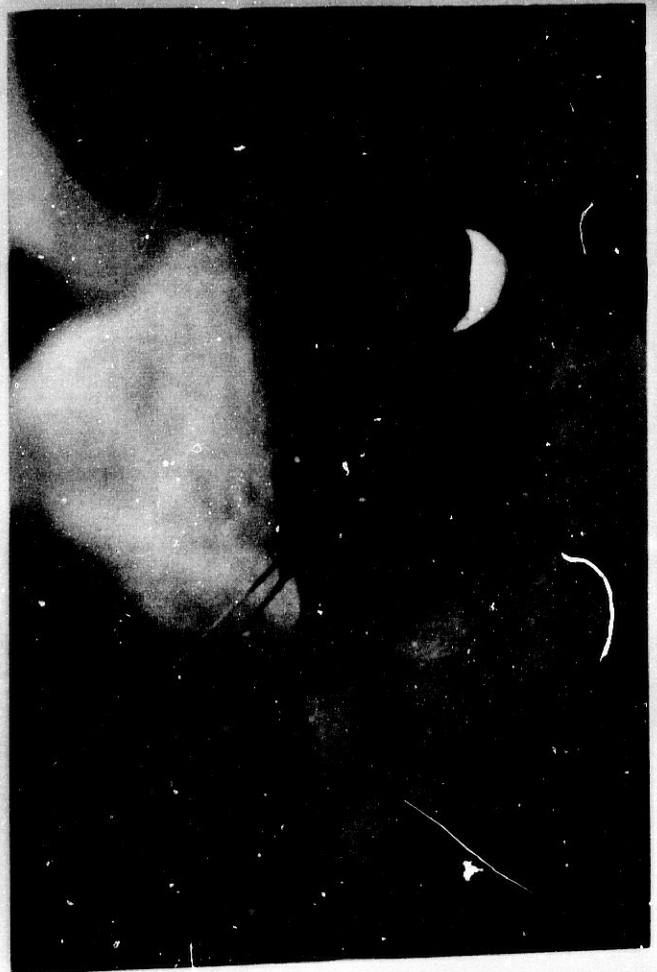
**FIG. 1b. TECNICA QUIRURGICA**

1b<sub>1</sub>.- Identificación de cúpula vesical y borde antimesentérico de colon sigmoides.

1b<sub>2</sub>.- Apertura de colon sigmoides.

1b<sub>3</sub>.- Apertura de cúpula vesical.

1b<sub>4</sub>.- Anastomosis vesicocólica y ligadura de uretra.



La recuperación postoperatoria tiene lugar segundos o minutos después de finalizar la intervención, con aparición prácticamente inmediata de las funciones motoras propias del animal, persistiendo habitualmente un discreto sopor y marcha atáxica durante 1-2 horas. La oferta de agua se produce inmediatamente tras la intervención, mientras que el pienso alimenticio se ofrece a las 24 horas de la misma, con la finalidad de prevenir las complicaciones inherentes al íleo postoperatorio y preservar la anastomosis del paso inmediato de heces en lo posible.

Durante este período postoperatorio se procede a observar la evolución del animal en las condiciones de habitat y alimentación ya descritas. Tras el éxitus espontáneo del mismo, siempre que éste hubiere transcurrido al menos 15 días tras la intervención, se procede a su congelación a  $-40^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento de su procesamiento.

### **NECROPSIA Y OBTENCION DEL MATERIAL DE ESTUDIO**

Si el éxitus tiene lugar, bien durante la aplicación del método quirúrgico, bien transcurridos menos de 15 días tras el mismo, entonces se procede a efectuar un estudio necrópsico del animal, en orden a establecer la causa de su muerte.

Por el contrario, si el sujeto de experimentación sobrevive un mínimo de 15 días, entonces ha sido congelado para ulterior procesamiento y en el momento de éste se procede a su descongelación a temperatura ambiente, tras la cual se efectúa laparotomía media y extracción del bloque a estudiar, que comprende colon terminal, a nivel de

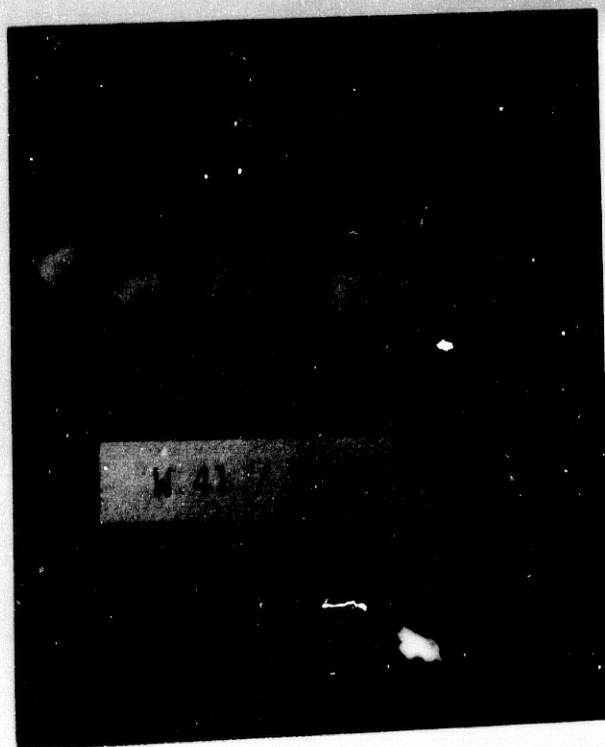
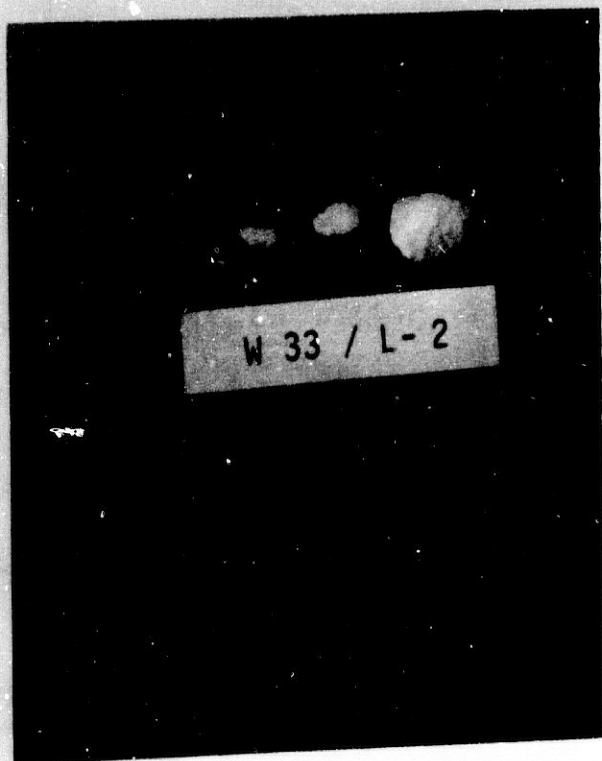
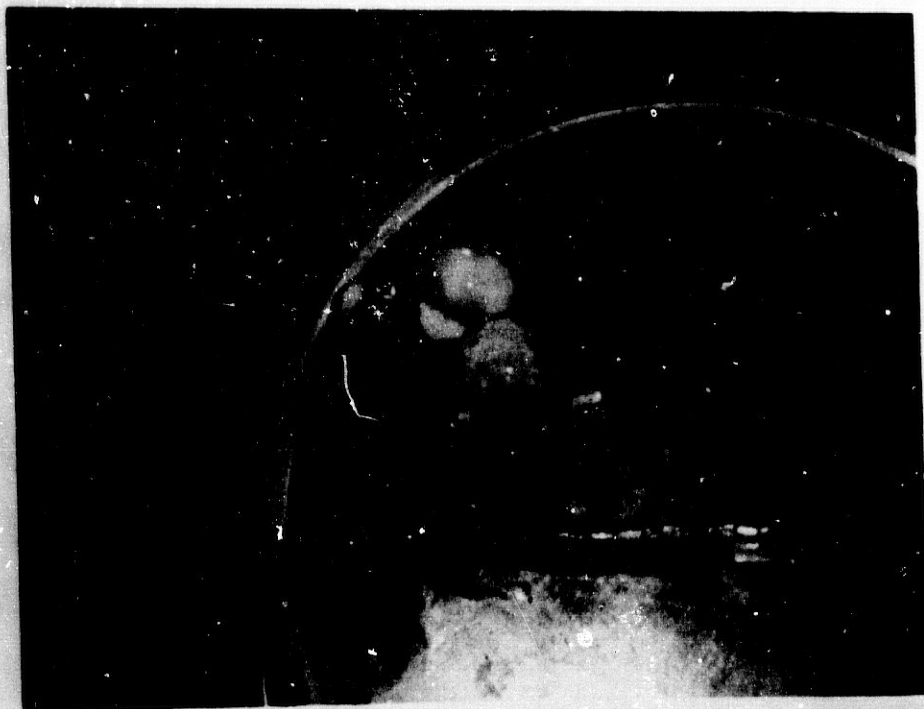


**FIGURA 2**

2a.- Vejiga abierta que aparece repleta de formaciones litiásicas.

2b.- Aspecto macroscópico de formaciones litiásicas, apreciándose consistencia rugosa y tamaño variable, desde microlitiasis de 1 mm. de diámetro a fragmentos superiores a 0.5 cms. de diámetro.

2c.- Formaciones litiásicas en las que se aprecia la tendencia esferoidea coraliforme de la configuración final.



anastomosis vesicosigmoidea, vejiga y porción distal de uréteres.

Una vez lavada minuciosamente la pieza en solución salina fisiológica, se canaliza cuidadosamente colon con una pipeta, a efectos de una manipulación más cuidadosa de la pieza y se abre vejiga y uréteres transversalmente, procediéndose a la búsqueda minuciosa de litiasis y microlitiasis en su interior, extrayendo éstas para su posterior estudio.

Tras la extracción y clasificación de las estructuras litiásicas obtenidas, se espera su desecación ambiental para proceder a estudio de las características macroscópicas y cuantificación de su número y dimensiones (Figura 2).

### **PROCESAMIENTO PARA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO**

Posteriormente se procede a escoger varias muestras líticas de cada uno de los animales con litiasis presente para su procesamiento por microscopía electrónica de barrido. Estos fragmentos líticos se someten a cortes transversales para obtener muestras no superiores a los 5 mm. de diámetro, las cuales se montan en portamuestras de aluminio de 1/8 de pulgada de eje y 1/2 pulgada de diámetro, utilizando como adherente plata coloidal.

Seguidamente, se realiza el recubrimiento simple con oro de las muestras ya montadas, maniobra cuyo objeto no es otro que asegurar la conductividad eléctrica desde

la superficie de la muestra al soporte y obtener un área que pueda emitir un gran número de electrones secundarios, mediante el bombardeo electrónico. Este proceso de recubrimiento de las muestras se realiza en un Sputtering-Polaron E-5000, con un vacío de 0,27 mbarr, tras lo cual se procede a visualizar la estructura litiásica en un microscopio electrónico de barrido marca Philips SEM 505, con un espectro de 20 a 100.000 aumentos.

El estudio de las piezas litiásicas así efectuado en orden a describir su patrón morfológico es realizado de forma minuciosa, objetivando los hallazgos y observaciones efectuadas con una cámara fotográfica POLAROID, incorporada al microscopio electrónico de barrido.

### PROCESAMIENTO MICROANALITICO

Para el estudio microanalítico del material litiásico obtenido en nuestro diseño experimental, las muestras fueron fragmentadas mediante cortes transversales, hasta obtener dimensiones inferiores a los 5 mm. de diámetro, como hemos descrito anteriormente refiriéndonos al procesamiento para microscopía electrónica de barrido. Tras dicha fragmentación, las muestras fueron depositadas en portamuestras de grafito de 1/8 de pulgada de eje y 1/2 pulgada de diámetro, utilizando como adherente en este caso grafito coloidal.

La metalización, en este estudio, se llevó a cabo mediante un recubrimiento con

carbón en un Sputtering-POLARON E-5300, y con un vacío de 0,1 mbarr. Concluido este proceso, las piezas litiásicas fueron observadas en el microscopio electrónico Philips 505 y microanalizadas en un detector de sistema de energía dispersiva de rayos X EDAX PV-9900.

Para el desarrollo de este estudio microanalítico, se han considerado dos modalidades metodológicas, según que la aplicación del sistema de energía dispersiva de rayos X se hubiere efectuado sobre la muestra a 300 aumentos (Modalidad metodológica I = M-1) ó a 10000 aumentos (Modalidad metodológica II = M-2), comprendiendo esta segunda modalidad dos aspectos, según el sistema se hubiere aplicado sobre estructuras poliédricas (M-2a) o granulares (M-2b).

Las constantes mantenidas para desarrollar el procedimiento microanalítico fueron las siguientes:

**\* MODALIDAD METODOLOGICA I (M-1):**

- Constantes del microscopio:

Voltaje	18 Kv
Spot size (tamaño del haz)	100 nm.
Aumentos	300
Angulo de superficie	35°
Superficie de análisis	7 $\mu^2$
Angulo de percepción	52°

- Constantes del detector:

Tiempo acumulación cuentas	50 segundos
----------------------------	-------------

\* MODALIDAD METODOLOGICA II (M-2):

- Constantes del microscopio:

Voltaje	18 Kv
Spot size (tamaño del haz)	100 nm.
Aumentos	10000
Angulo de superficie	35°
Superficie de análisis	0,006 $\mu^2$
Angulo de percepción	52°

- Constantes del detector:

Tiempo acumulación cuentas	50 segundos
----------------------------	-------------

Con las constantes indicadas para ambas modalidades se obtuvieron una serie de gráficas de carácter cualitativo para cada una de las muestras analizadas. En el análisis de los picos espectrales de los elementos se contabilizaron las cuentas por segundo (CPS) de cada superficie microanalizada. Fueron microanalizados asimismo el "background" (BKGD), fondo o radiaciones no características del elemento determinado y, finalmente, el índice "pico/fondo" (P/B).

En todas y cada una de las modalidades metodológicas consideradas se realizó un muestreo a base de 5 determinaciones microanalíticas, en orden a asegurar la fiabilidad estadística de los resultados obtenidos, efectuándose un total de 165 determinaciones. Los impulsos espectrales obtenidos en función del muestreo explicitado, previamente amplificados, pasaban por una unidad constituida por un analizador multicanal y un ordenador digital, donde eran clasificados y memorizados, siendo transferidos los datos así obtenidos a una unidad impresora para su ulterior análisis estadístico-matemático.

Con los datos así obtenidos en cada análisis realizamos las tablas que

posteriormente expondremos en nuestros "Resultados", y que espresarán el estudio microanalítico de cada modalidad metodológica.

### ANALISIS ESTADISTICO-MATEMATICO

La metodología estadístico-matemática aplicada a los resultados del estudio comprende tres vertientes:

1) Análisis estadístico estableciendo hipótesis de contraste entre los grupos considerados, aplicando tests de homogeneidad con dos muestras (test de Student para la comparación de dos medias de variables normales), mediante el cálculo del estadístico "t", cuyo valor se refiere en función de la igualdad o diferencia de varianzas:

\* Para varianzas iguales, se aplica "t de student":

$$t = [x_1 - x_2] / s \sqrt{[1/n_1 + 1/n_2]}$$

\* Para varianzas distintas, se aplica el "test de Welch":

$$t = [x_1 - x_2] / \sqrt{[s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2]}$$

donde, "x<sub>1</sub>" y "x<sub>2</sub>" = medias aritméticas

"s", "s<sub>1</sub>" y "s<sub>2</sub>" = varianzas

"n<sub>1</sub>" y "n<sub>2</sub>" = número de elementos

"t" = estadístico del que se difiere el valor de la probabilidad (p).

habiéndose aplicado los tests referidos para desarrollar los siguientes estudios:

- Estudio del parámetro "Peso", estableciendo hipótesis de contraste entre los diversos grupos experimentales.

- Estudio del índice P/B para estudiar la evolución secuencial de la composición de los elementos químicos que integran las litiasis detectadas, en orden a establecer hipótesis de contraste entre los diversos grupos experimentales y entre los patrones morfológicos detectados.

2) Análisis porcentual de los siguientes parámetros:

\* Estudio del parámetro "Mortalidad precoz", según datos de necropsias realizadas a los sujetos grupo "cero".

\* Estudio de la incidencia del fenómeno litogenético detectado según el grupo de pertenencia y el número de elementos del mismo.

3) Estudio del patrón microanalítico, en orden a establecer la relación porcentual de los elementos existentes en las litiasis, hallándose éstos referidos a las modalidades metodológicas indicadas con anterioridad.

Para ello, se ha aplicado sobre el cálculo previo de los valores estadísticos (media y desviación standard) la corrección del ZAF de Boekestein (Boekestein 1983), según la fórmula siguiente:

$$C_i(\text{corr.}) = F_{iZAF} \times C_i(\text{est.inicial})$$



donde,  $C_i$  (corregido) = fracción de masa corregida,

$F_{i(ZAF)}$  = Factor de corrección ZAF, y

$C_i$ (estimación inicial) = valor inicial de la masa,

teniendo en cuenta que el valor de  $F_{i(ZAF)}$  depende a su vez de la corrección de:

$Z$  = n° atómico del elemento considerado

$A$  = absorción de radiación de fondo

$F$  = fluorescencia indirecta.

Para el desarrollo del análisis estadístico matemático se ha utilizado un ordenador IMC-386-SX, aplicando programas diversos para su consecución:

- \* Sigma Horus.....Procesamiento estadístico
- \* Word Perfect.....Procesamiento de textos
- \* Harvard Graphics...Diseño gráfico
- \* Deluxe Paint.....Diseño gráfico
- \* Bioflex.....Corrección ZAF.

## RESULTADOS

## 1.- INTRODUCCION. DATOS GENERALES.

Para poder utilizar y procesar en este trabajo los 30 animales incluidos en el diseño experimental, han sido intervenidas 62 ratas Wistar, dada la alta morbimortalidad inherente a la metodología quirúrgica.

El listado general correspondiente a los 62 sujetos de experimentación se expresa en la tabla correspondiente (tabla I: LISTADO GENERAL DE ANIMALES DE EXPERIMENTACION), que incluye los parámetros:

- \* W = n° de orden animal de experimentación
- \* P = peso en el momento de la intervención
- \* I/E = intervalo Intervención/Exitus
- \* G.E. = grupo experimental
- \* L = existencia (+) o ausencia (-) de litiasis
- \* P = Procesamiento para microscopía electrónica de barrido realizado(+) o no(-).

En la tabla II incluye el listado de los 32 animales del denominado GRUPO CERO o grupo de animales no incluidos en el diseño experimental final. Este comprende a su vez

un subgrupo de 5 animales (grupo 0/1) que fueron exitos en el momento de la inducción anestésica, y otro de 27 animales (grupo 0/2) excluidos de la experiencia por su mortalidad muy precoz, en un período inferior a los 15 días de evolución postoperatoria. Esta misma tabla II incluye el dato "W" o número de orden del animal que corresponde en el listado general, el dato "P" (peso en el momento de la intervención) y los "DATOS DE NECROPSIA" de los animales del subgrupo 0/2.

Cinco animales testigo no intervenidos, pero sí procesados configuran el grupo C control, que junto con los demás grupos, de 5 animales asimismo, estructurados en grupos según el Intervalo I/E (Intervención/Exitus) configuran el GRUPO EXPERIMENTAL (tabla III).

La morbilidad postoperatoria fue observada de manera uniforme en todos y cada uno de los animales que sobrevivieron un mínimo de 7-10 días a la intervención, y los hallazgos detectados al respecto se resumen en dos aspectos:

\* ALTERACION DEL ESTADO GENERAL con aparición de un cuadro de apatía, anorexia y discreta pérdida de pelo, así como disminución visible de la masa corporal total, de 5-15 días de duración aproximada, al cabo de los cuales, el animal volvía a recuperar su vitalidad y bulimia habituales, así como a positivizar su curva ponderal. Todos y cada uno de los animales incluidos en el grupo "cero" fueron exitus durante este período.

\* APARICION DE DEPCISIONES LIQUIDAS Y ULCERAS PERIANALES, detectadas éstas últimas a los 15-20 días de la intervención, no volviendo las heces a

recuperar jamás su consistencia habitual de bolo fecal típico, y siendo persistente la presencia de las úlceras, que en algunos casos llegaban a provocar cuadros de necrosis en región perianal e inicio del rabo.

## 2.-ESTUDIO DEL CONTENIDO LITIASICO

### 2.1) INCIDENCIA GENERAL Y DISTRIBUCION

En 11 de los 30 animales procesados (36,66%) se han detectado estructuras litiásicas, porcentaje que se eleva al 44% si se estima esta cifra sobre los 25 animales sometidos al modelo quirurgico experimental, tal y como expresa la tabla IV (tabla IV: INCIDENCIA LITIASIS), la cual refleja asimismo la incidencia de litiasis detectadas en valores absolutos y porcentuales en función del grupo experimental (G.E.), exponiendo asimismo el nº de orden del animal de experimentación en que se ha detectado litiasis (W) y su supervivencia postoperatoria en días (I/E).

### 2.2. DESCRIPCION MACROSCOPICA DE LAS PIEZAS

La descripción macroscópica de piezas litiásicas detectadas al abrir la vejiga de los animales del GRUPO EXPERIMENTAL se especifica a continuación para cada una de

las estructuras obtenidas (n=11), habiéndose centrado este estudio macroscópico en la cuantificación de los fragmentos, su medición tridimensional y la descripción de su morfología, consistencia y sensación de superficie (Figura 2).

\* LITIASIS 1 (W-10).

Se detectan al abrir vejiga 2 fragmentos litiásicos de aspecto coraliforme esferoide irregular, cuyas dimensiones fueron respectivamente 5 x 2 x 2,5 mm. y 5 x 2 x 2 mm., junto a 8 microlitiasis granulares de diámetro inferior a 1 mm. La superficie de los fragmentos mayores es de aspecto rugoso y color amarillo claro.

Diámetro medio =  $3,1667 \pm 1,4376$  mm.

\* LITIASIS 2 (W-33).

Su vejiga contiene 10 microlitiasis de diámetro aproximado de 1 mm., junto a 4 fragmentos mayores de aspecto ovoide, cuyas dimensiones respectivas fueron 10 x 6 x 3,5/10 x 6x 3,5/4 x 2 x 2 y 4 x 2 x 1 mm. La superficie de las piezas muestra color amarillo claro y su tacto es rugoso irregular.

Diámetro medio =  $3,83 \pm 2,7613$  mm.

\* LITIASIS 3 (W-41)

Se encuentran 6 fragmentos, de aspecto claramente coraliforme, el mayor de ellos de forma irregularmente trapezoidal y dimensiones 14 x 10 x 6 mm., junto a una esfera de 8 x 8 x 8 y otros 4, de forma alargada corniforme, de 5 x 2 x 2 mm. El color de todos

ellos es amarillo claro y la superficie rugosa.

Diámetro medio =  $5 \pm 3,48$  mm.

\* LITIASIS 4 (W-42)

Corresponde macroscópicamente con 2 estructuras coraliformes ovoideas de color amarillo claro, y superficie rugosa, de dimensiones  $9 \times 5 \times 5$  y  $6 \times 2,5 \times 2,5$  mm de diámetros, respectivamente.

Diámetro medio =  $5 \pm 2,43$  mm.

\* LITIASIS 5 (W-45)

Se detectan 2 formaciones, la mayor de ellas de forma esférica, con una prolongación corniforme, de diámetros  $17 \times 13 \times 10$  mm. y la otra de forma ovoidea alargada y dimensiones de  $10 \times 5 \times 4$  mm. El color de su superficie rugosa-porosa es amarillo claro.

Diámetro medio =  $9,83 \pm 4,88$  mm.

\* LITIASIS 6 (W-46)

Corresponde a 5 microlitiasis de diámetro inferior a 1 mm. y 2 fragmentos, el mayor de ellos en forma de pera, de  $13 \times 11 \times 8$  mm., y el otro con aspecto de ovoide de  $6 \times 3 \times 2$  mm. de diámetros, respectivamente. Su color es amarillo claro y su superficie rugosa.

Diámetro medio =  $7,167 \pm 4,356$  mm.

\* LITIASIS 7 (W-47)

Se detectan 2 fragmentos, el mayor de los mismos de aspecto coraliforme ovoideo muy irregular, y dimensiones 8 x 5 x 2 mm., junto a otro, también ovoideo, de 5 x 2 x 2 mm. Su superficie es muy irregular, rugosa al tacto, y su color amarillo claro.

Diámetro medio =  $4 \pm 2,49$  mm.

\* LITIASIS 8 (W-48)

Presenta un fragmento esférico de 3 x 3 x 3 mm., junto a 7 más pequeños, muy irregulares en su aspecto, de un diámetro aproximado medio de 2 mm. El color de todos ellos es amarillo claro con tonos más oscuros y junto al aspecto más liso del mayor, destacan el aspecto más rugoso del resto de las litiasis.

Diámetro medio =  $2,125 \pm 0,34$  mm.

\* LITIASIS 9 (W-49)

Corresponde a 3 fragmentos coraliformes de dimensiones respectivas 16 x 7 x 5/13 x 6 x 5 y 5 x 3 x 1 mm. junto a 5 microlitos de diámetro medio aproximado entre 1 y 2 mm. La forma de las dos piezas mayores es francamente irregular alargada, mientras que la tercera es ovoidal. La superficie de todas ellas es amarilla clara, alternando el tacto suave y rugoso en la misma.

Diámetro medio =  $3,989 \pm 4,35$  mm.

\* LITIASIS 10 (W-50)

Contiene 3 fragmentos ovoideos, de color amarillo en tonos variados, y blanquecino al corte, siendo su superficie rugosa irregular. Sus diámetros máximos son respectivamente 12 x 7 x 5/4 x 3 x 2 y 4 x 3 x 2 mm.



Diámetro medio =  $4,67 \pm 3,18227$  mm.

\* LITIASIS 11 (W-55)

Se detectan 2 fragmentos, uno de ellos amarillo oscuro con manchas negruzcas, muy irregular, de unos 3 mm. de diámetro, y el otro, corniforme, amarillo claro, de 2x1x1 mm., junto a 6 microlitos de 1 mm de diámetro aproximado.

Diámetro medio =  $2,083 \pm 1,1143$  mm.

2.3. ESTUDIO DEL PATRON MORFOLOGICO MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO.

El estudio por microscopía electrónica de barrido de la morfología de las estructuras litiásicas obtenidas a través del modelo quirúrgico utilizado pone de relieve en primer lugar una uniformidad morfológico-microscópica de todas las piezas litiásicas obtenidas.

Así pues, en primer lugar, en lo que se refiere a la configuración general de las estructuras líticas, se observa en las imágenes al corte que se hallan compuestas por un núcleo irregular sobre el cual asientan sucesivas capas de sustancias cristalinas (Figuras 3D, 5A, 6A, 6B), de forma que el patrón morfológico final, observado tanto en los fragmentos de mayor tamaño como en las microlitiasis, presenta una tendencia esferolítica u ovoidea (Figura 3C).

En las imágenes obtenidas al corte, se objetiva asimismo un patrón relativamente compacto de áreas intermedias, con frecuente aspecto de imagen en "mosaico" (Figuras 3D, 5B, 5D), que a mayor aumento se configura como placas poligonales de lados imperfectos, pero de clara tendencia geométrica pentagonal, hexagonal o trapezoidal, cuyas líneas de fractura frecuente le prestan un aspecto de "cemento agrietado" (Figuras 5B, 5C, 5D). Tales placas presentan escaso grosor y la estratificación de unas sobre otras contribuye a la configuración concéntrica descrita más arriba y a la cohesión final de la masa lítica (Figuras 5A, 6B).

Este patrón compacto y concéntrico no se observa en la superficie de la masa lítica. A dicho nivel, el estudio microscópico revela en todas y cada una de las estructuras litiásicas dos patrones morfológicos básicos: el patrón *poliédrico* y el patrón *granular*.

El patrón poliédrico, que predomina cuantitativamente sobre la topografía de la superficie lítica, se caracteriza por la presencia de estructuras trapezoidales y piramidales de perfección cristalográfica más ortotípica, delimitada por ángulos diedros que, en general, ofrecen carácter romo. Dichas estructuras ofrecen con frecuencia imagen en "ataúd" y, en su conjunto, una disposición radial emergiendo de la masa irregular amorfa ubicada en el centro de la estructura litiásica (Figuras 3A, 3B, 4A, 4B, 4C, 4D).

La descripción topográfica de estas estructuras poliédricas observadas en la superficie de los cálculos, se pone más claramente de manifiesto a mayor aumento, objetivándose con mayor nitidez el patrón irregular de bordes romos y perfección geométrica variable, con agrietamientos frecuentes en su superficie (Figuras 4A, 4C, 4D,

8C).

Por otra parte, hemos de resaltar que en nuestra observación microscópica, esta disposición geométrica a veces pierde su forma típica poliédrica y presenta características cúbicas muy regulares, objetivándose igualmente en estas formaciones cúbicas una mayor perfección de los ángulos diedros y persistiendo el aspecto agrietado de la topografía superficial (Figura 6D), que hemos descrito previamente.

El segundo patrón objetivado en nuestra observación microscópica de la topografía superficial de las litiasis, citado más arriba, es de tipo microesferolítico o granular, el cual se presenta desde un punto de vista morfológico con aspecto de granulomas vegetantes de forma redondeada y superficie verrugosa (Figuras 7A, 7B, 7C, 7D). La uniformidad morfológica de tales formaciones es muy irregular, habiéndose observado desde configuraciones regularmente redondeadas con numerosas espículas radiando hacia el exterior (Figura 8B, 8D), hasta otras en las que casi se pierde el carácter esferolítico microgranular que se alarga o deforma, tornándose al mismo tiempo su superficie menos regularmente dispuesta (Figuras 7A, 7B), siendo este fenómeno de pérdida de regularidad proporcional a la cercanía de cristales poliédricos descritos más arriba, que en el conjunto de la masa lítica se mezclan con este segundo patrón morfológico (Figura 7A).

Este segundo patrón de tipo granular se detecta con frecuencia en las oquedades y líneas de fractura y unión de los cristales poliédricos (Figura 8C). Asimismo, hemos de indicar que estas formaciones se presentan con una distribución muy irregular en el contexto de la topografía lítica.

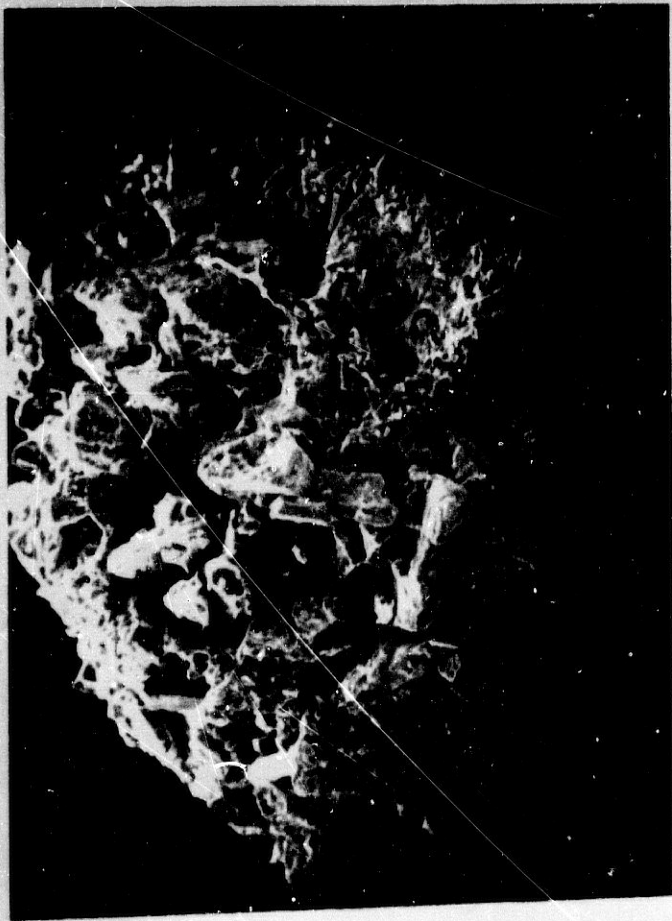
En la superficie de la masa lítica se ha detectado ocasionalmente la presencia de imágenes alargadas, de aspecto filiforme, arracimado y "vermiforme", o bien completamente redondeadas, como microgránulos, que protruyen sobre la misma. Igualmente han sido observadas a veces entre áreas litiásicas diversas, bandas de uromucoides (Figuras 4C, 6C).

Así pues, en resumen, puede afirmarse que se han detectado dos patrones morfológicos básicos, perteneciente el primero a una línea de mayor ortotipicidad cristalográfica que presenta configuración poliédrica, y el segundo a la línea microgranular que cristaliza como esferolito. Ambos patrones morfológicos se hallan irregularmente mezclados en la masa litiásica, predominando cuantitativamente el patrón poliédrico (Figura 8A).

Igualmente, hemos de resaltar que ocasionalmente se ha detectado la presencia de material sobreañadido (Figuras 4C, 6C).

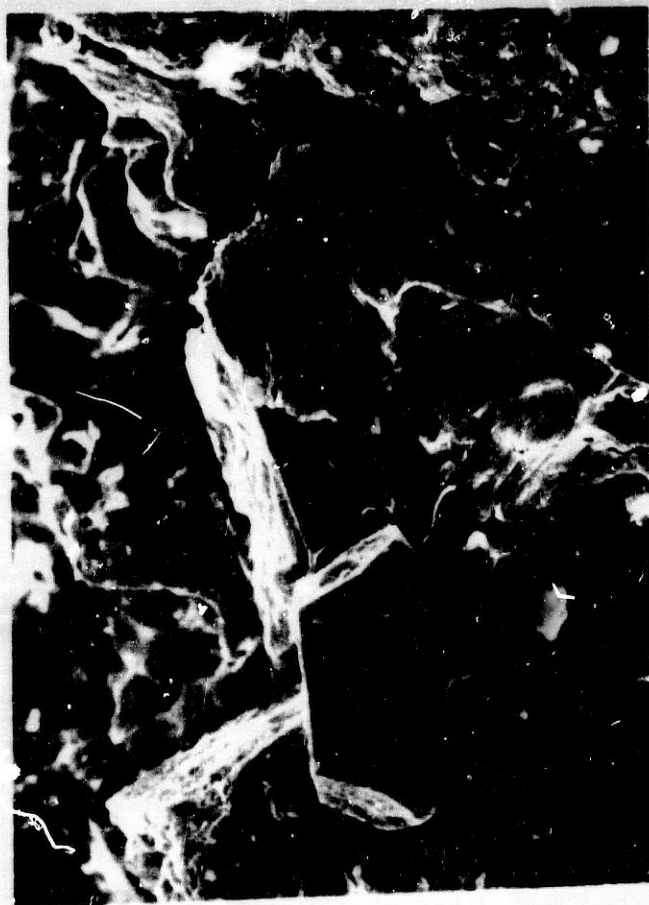
**FIGURA 3**

- 3A. Disposición radial de elementos prismáticos emergiendo de masa irregular amorfa (49x).
- 3B. Superficie litiásica en la que se observan abundantes estructuras de configuración geométrica diversa (68x).
- 3C. Microlitiasis en la que se aprecia la configuración final esferoidea (89x).
- 3D. Detalle de disposición concéntrica de una sección litiásica (37x).



#### **FIGURA 4**

- 4A. Formaciones poliédricas delimitadas por ángulos romos diedros, ubicadas en la superficie de la litiasis (325x)
- 4B. Patrón irregular poliédrico de bordes romos y perfección geométrica variable (380x).
- 4C. Agrietamientos de las formaciones poliédricas y bandas uromucoides (440x).
- 4D. Formaciones poliédricas de típica disposición en "ataúd" (388x).





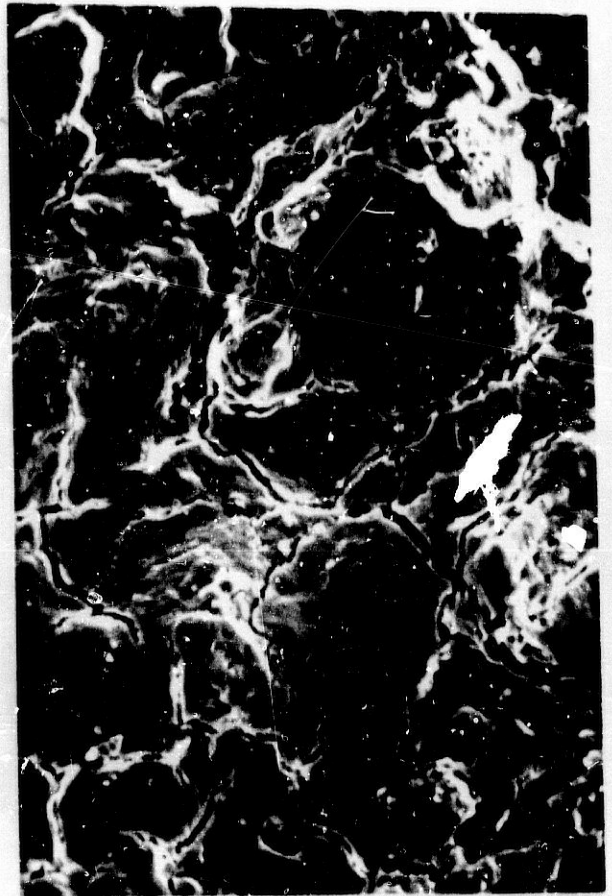
**FIGURA 5**

5A. Configuración en estratos o placas de la formación litiásica (300x)

5B. Tendencia poligonal con aspecto de "cemento agrietado" (1800x).

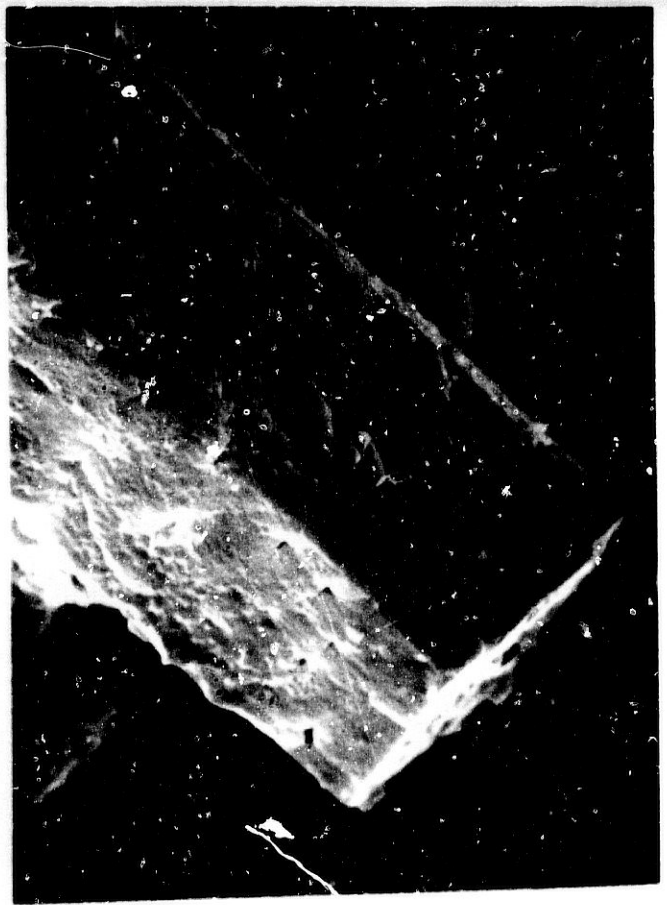
5C. Aposición sucesiva de placas de tendencia poligonal (1800x).

5D. Disposición en "mosaico" de una sección litiásica (700x).



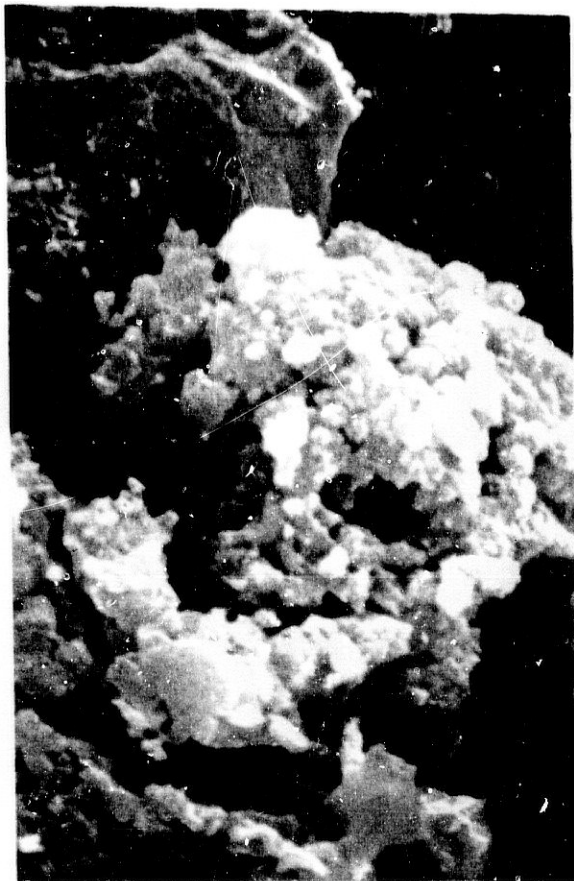
## **FIGURA 6**

- 6A. Fenómeno de estratificación (2500x).
- 6B. Detalle del fenómeno de estratificación (5950x).
- 6C. Imágenes microgranulares y baciliformes sobreañadidas a la superficie litiásica (16800x).
- 6D. Formación cúbica con mayor perfección de ángulos diedros (1200x).



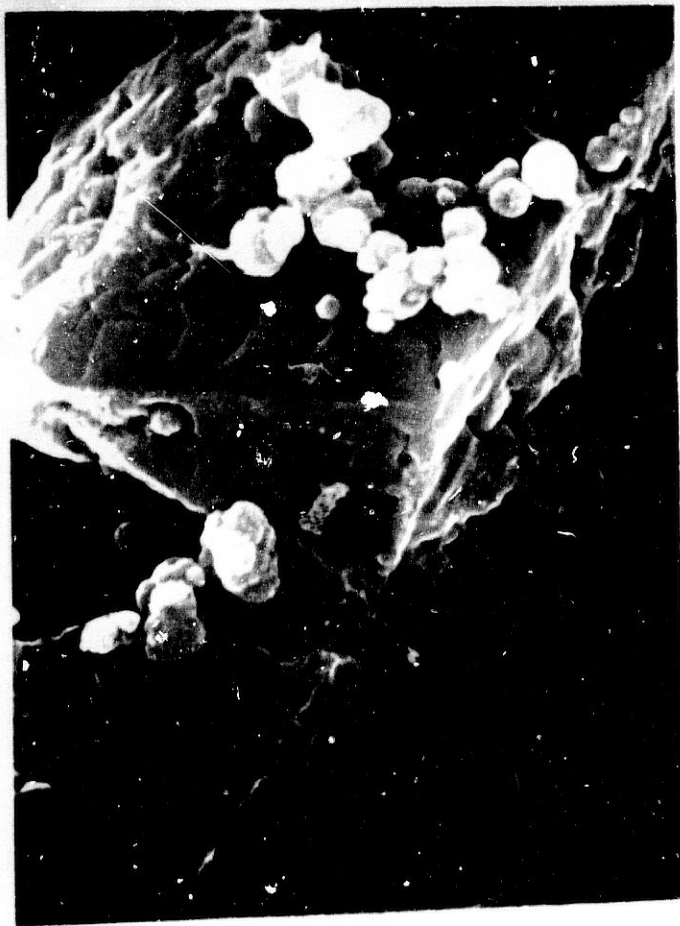
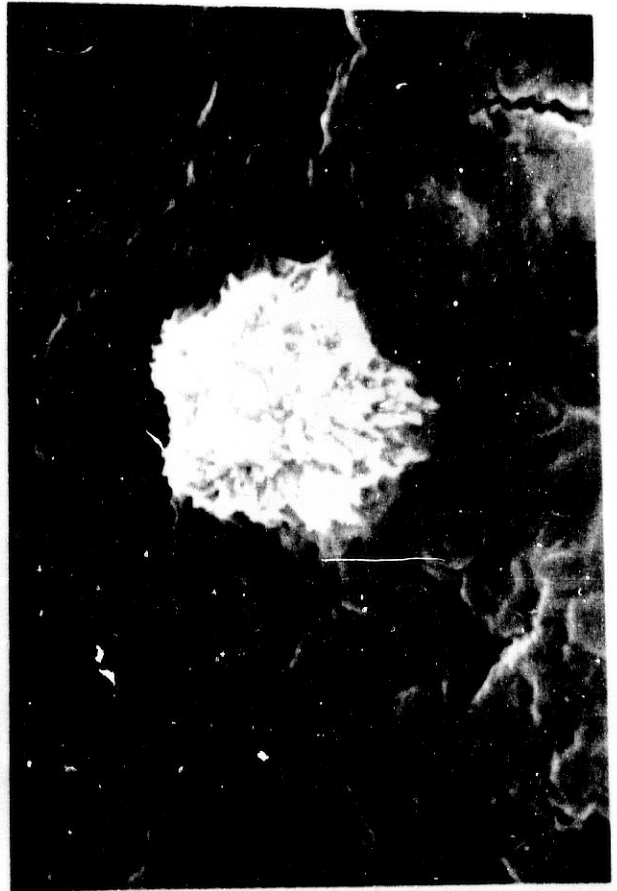
**FIGURA 7**

- 7A. Patrón granular esferolítico irregularmente distribuido entre las formaciones geométricas (5000x).
- 7B. Acúmulos microgranulares (6200x):
- 7C. Aspecto de granuloma vegetante del patrón microgranular (9600x).
- 7D. Acúmulos microgranulares que adoptan formas muy diversas (10000x).



**FIGURA 8**

- 8A. Patrón poliédrico y granular alternando en la superficie litiásica (1000x).
- 8B. Microgránulo con espículas que irradian hacia el exterior (5200x).
- 8C. Formaciones granulares ubicadas en las grietas y oquedades de la litiasis (6000x).
- 8D. Estructura granular con espículas radiantes junto a formaciones poliédricas con bandas uromucoides (1600x).





## 2.4. ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA ELEMENTAL MEDIANTE MICROANÁLISIS POR ENERGÍA DISPERSIVA DE RAYOS X.

Por otra parte, los resultados obtenidos tras el estudio microanalítico, en base a las dos modalidades metodológicas descritas en el capítulo "Material y Métodos", quedan referidos en las tablas V, VI y VII. Cada una de dichas tablas referidas (V, VI, VII) constan de 11 subtablas (denominadas con los subíndices 1 a 11), correspondientes a su vez a cada una de las estructuras litiásicas detectadas.

La tabla V refleja los resultados detectados para la Modalidad Metodológica I (M-1), mientras que las tablas VI y VII expresan los resultados referidos a la Modalidad metodológica II. En este sentido, la tabla VI contiene los datos inferidos del microanálisis de las estructuras poliédricas (Modalidad Metodológica M-2a: Análisis selectivo POLIEDRO) y la tabla VII los de las estructuras granulares (Modalidad Metodológica M-2b: Análisis selectivo GRANULO).

Estas tablas contienen los parámetros siguientes:

- \* ELEMENTO (según el orbital k-alfa), habiéndose detectado los siguientes:
  - Sodio (Na)
  - Magnesio (Mg)
  - Fósforo (P)
  - Azufre (S)
  - Cloro (Cl)
  - Potasio (K)
  - Calcio (Ca)
- \* CPS (cuentas por segundo)
- \* BKGD (background o radiación de fondo)
- \* P/B (cociente CPS/BKGD)
- \* A-1 a A-5. Resultados de los 5 Análisis efectuados sobre cada área.

### 3. ANALISIS ESTADISTICO MATEMATICO

#### 3.1. ESTUDIO ESTADISTICO DEL PARAMETRO "PESO"

La tabla VIII<sub>1</sub> expresa los valores medios ( $\bar{x}$ ) y desviación standards (DS), así como los resultados del tratamiento estadístico (valor de probabilidad "p") , en orden a establecer hipótesis de contraste entre el grupo "Experimental"(G.E.) y los grupos siguientes:

- \* G.T. = Grupo total
- \* 0/1 = Grupo exitus en anestesia
- \* 0/2 = Grupo "mortalidad precoz"

La tabla VIII<sub>2</sub> contiene los valores medios ( $\bar{x}$ ) y desviaciones standards (DS) de todos los grupos experimentales y el valor de la probabilidad ("p") al contrastar entre sí todos y cada uno de los grupos.

#### 3.2. ESTUDIO DEL PARAMETRO "MORTALIDAD GENERAL Y PRECOZ"

Los resultados referentes al estudio del parámetro "Mortalidad general" se exponen en la gráfica I, que muestra los porcentajes de mortalidad global (52%), al contrastar los grupos "EXPERIMENTAL" (n=30) y "CERO" (n=32) de animales no incluidos en el primero. En este mismo sentido, la Gráfica II muestra la distribución en valores absolutos

y porcentuales de las causas de muerte de los animales del grupo "Cero", según ésta hubiere tenido lugar en el momento de la inducción anestésica (grupo 0/1) lo cual tuvo lugar en 5 casos (16%), o bien por otras causas, a su vez analizadas según los datos hallados en las necropsias de dichos animales.

### 3.3. INCIDENCIA DEL FENOMENO LITOGENETICO

El análisis estadístico de la incidencia del fenómeno litogénético, objeto de nuestra Tesis Doctoral, queda reflejado en la Gráfica III muestra la incidencia en valores absolutos y porcentuales de la incidencia del fenómeno litogénético referida a los grupos reseñados, habiéndose pues detectado litiasis en el 17,74% (11 casos) del total de los 62 animales intervenidos. Esta cifra, tal y como refleja la misma gráfica, se eleva al 36,66% si se contrasta la incidencia litiásica con los 30 animales del GRUPO EXPERIMENTAL. En este mismo sentido, la gráfica IV se expresa la distribución de la incidencia litiásica, contrastada con el intervalo I/E, o lo que es lo mismo, en función del grupo experimental (G.E.) de pertenencia del animal.

### 3.4. ANALISIS ESTADISTICO RESULTADOS MICROANALITICOS.

La tabla IX<sub>1</sub> a IX<sub>11</sub> expresa los valores estadísticos (media aritmética  $\bar{x}$  y desviación standards -DS-) de cada una de las modalidades metodológicas incluidas en el estudio (M-1, M-2a, M-2b) para los parámetros CPS (cuentas por segundo) y P/B (índice

CPS/BKGD) obtenidos para cada elemento químico simple detectado en el orbital "k-alfa" de todas y cada una de las estructuras litiásicas. El cálculo de estos parámetros es preceptivo al estudio a realizar ulteriormente para la determinación del patrón microanalítico, que se efectúa en función de los valores CPS, así como para el establecimiento de hipótesis de contraste grupales, que se lleva a cabo en función del índice P/B.

Para la obtención del patrón microanalítico se ha partido de los datos estadísticos (media y desviación standard) de CPS obtenidos para cada elemento y modalidad, consideradas conjuntamente todas y cada una de las 11 estructuras litiásicas, tal y como se expresa en la tabla X.

La corrección del ZAF aplicada a los valores así obtenidos se expresa en la tabla XI<sub>1</sub> a XI<sub>3</sub>, la cual se efectúa, como se desprende de la observación de la tabla (para cada Modalidad Metodológica considerada), en función de una constante para cada elemento (K), el valor de su número atómico (Z), el factor "absorción" (A) y el factor "fluorescencia" (F), contenidos todos ellos en el programa informático BIOFLEX, normalizado para la corrección del ZAF (Bokestein 1983). En función pues, de estos valores correctores sobre el valor inicial CPS transferido desde la tabla X, se obtiene el porcentaje de peso de elemento determinado y la composición porcentual final de la estructura considerada, o lo que es lo mismo, el patrón microanalítico.

Con otra finalidad han sido usados los valores del índice P/B, en orden a establecer la correspondiente hipótesis de contraste para el estudio de la evolución secuencial de la

composición estructural de las litiasis en función del intervalo I/E o latencia postquirúrgica de desarrollo lesional, o lo que es lo mismo, en función del grupo experimental de pertenencia. Para ello, se ha partido de los valores estadísticos (media aritmética  $\bar{x}$  y desviación standard -DS-) de dicho índice P/B. En este sentido, la tabla XII, refleja dichos valores para cada elemento y grupo experimental, de los que se infieren los resultados estadísticos de la tabla XII.

Por último en lo que se refiere al análisis estadístico efectuado, también se han utilizado los valores del índice P/B para el contraste estadístico de las dos estructuras básicas morfológicas detectadas (poliedro y gránulo). Así, la tabla XIII expresa los valores estadísticos ( $\bar{x} \pm DS$ ) de la composición elemental litiásica según las Metodologías Metodológicas M-2a y M-2b, así como el tratamiento estadístico (valor "p") de dichos valores.

TABLAS

**TABLA I**  
**LISTADO GENERAL DE ANIMALES**  
**DE EXPERIMENTACION WISTAR**

W	P	I/E	G.E.	L	P
1	125	0	0	-	-
2	120	2	0	-	-
3	106	1	0	-	-
4	105	2	0	-	-
5	148	0	0	-	-
6	138	10	0	-	-
7	146	90	III	-	+
8	128	9	0	-	-
9	115	5	0	-	-
10	128	53	II	+	+
11	88	14	0	-	-
12	151	0	0	-	-
13	157	1	0	-	-
14	168	56	II	-	+
15	169	13	0	-	-
16	135	9	0	-	-
17	130	2	0	-	-

18	104	1	0	-	-
19	93	15	0	-	-
20	107	3	0	-	-
21	115	2	0	-	-
22	130	50	II	-	+
23	111	14	0	-	-
24	89	6	0	-	-
25	107	20	I	-	+
26	145	23	I	-	+
27	108	10	0	-	-
28	130	12	0	-	-
29	174	3	0	-	-
30	151	11	0	-	-
31	131	3	0	-	-
32	130	3	0	-	-
33	142	96	IV	+	+
34	145	0	C	-	+
35	142	20	I	-	+
36	136	0	C	-	+
37	162	13	0	-	-
38	100	3	0	-	-



39	102	3	0	-	-
40	188	105	IV	-	+
41	184	178	V	+	+
42	173	168	V	+	+
43	237	56	II	-	+
44	137	87	III	-	+
45	238	95	IV	+	+
46	235	77	III	+	+
47	212	75	III	+	+
48	211	102	IV	+	+
49	229	151	V	+	+
50	229	121	V	+	+
51	244	105	IV	-	+
52	192	4		-	+
53	160	0	C	-	+
54	189	69	III	-	+
55	175	55	II	+	+
56	217	24	I	-	+
57	205	20	I	-	+
58	187	131	V	-	+
59	170	0	C	-	+

60	189	0	C	-	+
61	188	0	0	-	-
62	198	0	0	-	-
62				11	30

W = N° de orden del animal de experimentación.

P = Peso en el momento de la intervención.

I/E = Intervalo Intervención/Exitus.

G.E. = Grupo experimental.

L = Litiasis presente (+) o ausente (-).

P = Procesamiento realizado (+) o no (-).

**TABLA II.- GRUPO "CERO"**

Grupo "0"	n	W	P	NECROPSIA
Grupo 0/2	5	1	125	Exitus en anestesia
		5	148	Exitus en anestesia
		12	151	Exitus en anestesia
		61	188	Exitus en anestesia
		62	198	Exitus en anestesia
Grupo 0/2	27	2	120	Ileo mecánico
		3	106	" "
		4	105	Laparotomía blanca
		6	138	" "
		8	128	Abceso vesicocólico
		9	115	Ileo mecánico
		11	88	Pioidronefrosis
		13	157	Ileo mecánico
		15	169	" "
		16	135	Peritonitis
		17	130	Ileo mecánico
		18	104	Laparotomía blanca
		19	93	Peritonitis
		20	107	Ileo mecánico
		21	115	" "
		23	111	" "
		24	89	Abceso vesicocólico
		27	108	Pioidronefrosis

Grupo 0/2 (cont.)	28	130	" "
	29	174	Ileo mecánico
	30	151	" "
	31	131	" "
	32	130	" "
	37	162	Laparotomía blanca
	38	100	" "
	39	102	Pioidronefrosis
	52	192	" "

Grupo "0" = Grupo no incluido en el diseño.  
 Grupo 0/1 = Animales exitus en anestesia.  
 Grupo 0/2 = Animales fallecidos antes de 15 días.  
 n = n° de elementos de cada grupo.  
 W = n° del animal de experimentación.  
 P = Peso en el momento de la intervención.  
 Necropsia = Datos de necropsia.

**TABLA III**  
**DISEÑO EXPERIMENTAL**

G.E.	W	I/E
C	45	0
	54	0
	74	0
	94	0
	95	0
I	32	20
	33	23
	52	20
	83	24
	90	20
II	16	53
	21	56
	29	50
	62	56
	79	55

III	13	90
	63	87
	65	77
	66	75
	77	69
IV	44	96
	59	105
	64	95
	67	102
	70	105
V	60	178
	61	168
	68	151
	69	121
	92	131
n = 30		

G.E. = Grupo Experimental.  
W = N° de orden animal de experimentación.  
I/E = Intervalo Intervención/Exitus

**TABLA IV**  
**INCIDENCIA LITIASIS**

G.E.	W	I/E	INCIDENCIA
C	-	0	0/5 (0%)
I	-	< 30	0/5 (0%)
II	10 55	53 55	2/5 (40%)
III	46 47	77 75	2/5 (40%)
IV	33 45 48	96 95 102	3/5 (60%)
V	41 42 49 50	178 168 151 121	4/5 (80%)
			11/30 (36,6%)

G.E. = Grupo Experimental  
W = N° de orden animal experimentación  
I/E = Intervalo Intervención/Exitus  
Incidencia (valor absoluto y porcentual)

**TABLA V<sub>1</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 1 (W-10)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	1.640	-	3.660	2.160	2.360
	BKGD	14.040	-	17.220	14.660	14.420
	P/B	0.117	-	0.213	0.147	0.16
Mg *k-alfa	CPS	173.020	200.280	257.620	214.660	216.300
	BKGD	21.660	25.620	26.580	22.120	21.520
	P/B	7.988	7.817	9.692	9.704	10.051
P *k-alfa	CFS	407.440	440.140	521.740	466.840	444.680
	BKGD	33.520	30.160	30.020	26.180	27.040
	P/B	12.155	14.594	17.380	17.832	16.445
S *k-alfa	CPS	-	1.140	-	-	2.140
	BKGD	-	17.860	-	-	25.800
	P/B	-	0.041	-	-	0.083
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	21.800	25.320	18.840	22.800	23.840
	BKGD	23.960	22.980	26.820	21.360	19.860
	P/B	0.910	1.102	0.702	1.067	1.200
Ca *k-alfa	CPS	13.280	12.820	4.920	12.180	14.100
	BKGD	20.600	20.720	24.300	19.020	17.260
	P/B	0.645	0.619	0.202	0.640	0.817



**TABLA V<sub>2</sub>: M-1 (Análisis general):LITIASIS 2 (W-33).**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	1.140	1.020	1.260	1.080
	BKGD	-	12.70	10.380	13.260	12.120
	P/B	-	0.090	0.098	0.095	0.089
Mg *k-alfa	CPS	150.800	195.340	140.080	221.320	222.980
	BKGD	25.700	20.800	16.960	20.100	19.340
	P/B	5.868	9.632	0.098	11.011	11.529
P *k-alfa	CPS	419.540	526.680	419.960	559.020	576.940
	BKGD	28.940	22.940	25.500	22.280	25.020
	P/B	14.497	22.959	16.469	25.091	23.059
S *k-alfa	CPS	5.980	0.920	-	-	-
	BKGD	25.600	20.920	-	-	-
	P/B	0.234	0.044	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	33.580	47.040	41.260	45.180	43.100
	BKGD	29.400	20.840	25.080	20.280	19.960
	P/B	1.142	2.257	1.645	2.228	2.159
Ca *k-alfa	CPS	5.980	46.040	41.440	22.620	33.340
	BKGD	27.820	19.800	23.080	18.780	18.100
	P/B	0.215	2.535	1.795	1.204	1.842

**TABLA V<sub>3</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 3 (W-41)**

**ELEMENTO**

<b>*orbital</b>		<b>A-1</b>	<b>A-2</b>	<b>A-3</b>	<b>A-4</b>	<b>A-5</b>
Na *K-alfa	CPS	0.760	-	-	3.580	0.840
	BKGD	12.840	-	-	12.080	11.160
	P/B	0.059	-	-	0.296	0.075
Mg *k-alfa	CPS	250.920	287.520	250.360	221.960	205.900
	BKGD	20.160	23.680	23.820	18.300	18.600
	P/B	12.446	12.142	10.510	12.129	0.075
P *k-alfa	CPS	572.200	626.780	573.800	473.760	505.080
	BKGD	19.340	26.900	25.060	28.000	18.880
	P/B	29.586	23.300	22.897	16.920	26.752
S *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	27.100	21.820	25.960	29.200	21.280
	BKGD	16.620	21.180	17.640	17.340	21.120
	P/B	1.631	1.005	1.472	1.684	1.008
Ca *k-alfa	CPS	5.720	39.680	16.060	20.980	13.340
	BKGD	15.600	19.120	15.900	14.100	20.120
	P/B	0.367	2.075	1.010	1.488	0.663

**TABLA V<sub>4</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 4 (W-42)**

**ELEMENTO**

<b>*orbital</b>		<b>A-1</b>	<b>A-2</b>	<b>A-3</b>	<b>A-4</b>	<b>A-5</b>
Na *k-alfa	CPS	2.800	10.680	8.500	12.360	6.100
	BKGD	8.780	17.740	21.440	12.900	14.900
	P/B	0.319	0.602	0.396	0.958	0.409
Mg *k-alfa	CPS	36.100	11.680	91.300	13.340	64.060
	BKGD	11.380	22.020	27.060	17.500	18.420
	P/B	3.172	0.530	3.374	0.762	3.478
P *k-alfa	CPS	131.740	92.340	254.040	83.760	175.440
	BKGD	13.680	23.440	27.320	19.660	27.220
	P/B	9.630	3.939	9.299	4.260	6.445
S *k-alfa	CPS	22.380	43.960	35.080	36.160	19.460
	BKGD	13.440	22.380	25.220	18.720	26.400
	P/B	1.665	1.964	1.391	1.932	0.737
Cl *k-alfa	CPS	13.700	27.080	23.200	23.020	10.700
	BKGD	13.200	21.380	23.360	17.860	21.860
	P/B	1.038	1.267	0.993	1.289	0.489
K *K-alfa	CPS	28.580	42.980	42.800	36.040	25.500
	BKGD	13.800	18.520	20.620	15.980	17.600
	P/B	2.071	2.321	2.113	2.255	1.449
Ca k-alfa	CPS	7.540	16.740	11.840	10.480	7.740
	BKGD	12.840	15.200	16.840	13.480	14.400
	P/B	0.587	1.101	0.703	0.777	0.538

**TABLA V<sub>3</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 5 (W-45)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	2.920	5.560	16.040	4.300	2.100
	BKGD	18.100	15.780	24.440	26.240	21.740
	P/B	0.161	0.352	0.656	0.164	0.097
Mg *k-alfa	CPS	158.120	121.380	55.600	42.600	151.440
	BKGD	22.500	20.080	30.500	29.980	25.940
	P/B	7.028	6.045	1.823	1.470	5.838
P *k-alfa	CPS	395.900	339.520	188.620	202.740	390.440
	BKGD	28.320	26.840	30.860	27.600	26.240
	P/B	13.980	12.650	6.112	7.346	14.880
S *k-alfa	CPS	5.940	9.120	77.920	50.080	24.500
	BKGD	27.500	26.440	28.640	24.480	23.640
	P/B	0.216	0.345	2.721	2.046	1.036
Cl *k-alfa	CPS	-	-	3.340	1.480	1.140
	BKGD	-	-	26.440	21.540	21.560
	P/B	-	-	0.126	0.069	0.053
K *k-alfa	CPS	17.480	21.460	21.360	25.840	23.400
	BKGD	21.420	21.920	26.180	18.440	21.500
	P/B	0.816	0.979	0.816	1.401	1.088
Ca *k-alfa	CPS	29.260	103.280	77.900	125.360	21.600
	BKGD	18.820	19.700	24.240	15.800	19.960
	P/B	1.555	5.243	3.214	7.934	1.082

**TABLA V<sub>6</sub>: M-1 (Análisis general):LITIASIS 6 (W-46)**

**ELEMENTO**

<b>*orbital</b>		<b>A-1</b>	<b>A-2</b>	<b>A-3</b>	<b>A-4</b>	<b>A-5</b>
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	140.860	140.960	170.060	204.780	187.020
	BKGD	19.280	28.540	23.500	25.240	22.740
	P/B	7.35	4.939	7.237	8.113	8.224
P *k-alfa	CPS	360.760	409.700	435.120	483.660	443.960
	BKGD	26.080	35.400	36.480	35.760	26.660
	P/B	13.833	11.573	11.298	8.113	16.653
S *k-alfa	CPS	5.160	39.160	7.760	3.140	5.620
	BKGD	24.880	29.180	35.720	35.060	23.040
	P/B	0.207	1.342	0.217	0.090	0.244
Cl *k-alfa	CPS	0.700	11.600	-	-	0.880
	BKGD	21.980	27.540	-	-	21.080
	P/B	0.032	0.421	-	-	0.042
K *k-alfa	CPS	21.700	32.040	34.140	28.320	27.020
	BKGD	20.440	33.980	22.620	22.400	21.720
	P/B	1.062	0.943	1.509	1.264	1.244
Ca *k-alfa	CPS	4.560	-	5.900	5.880	-
	BKGD	18.320	-	18.900	18.620	-
	P/B	0.249	-	0.312	0.316	-

**TABLA V<sub>7</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 7 (W-47)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	221.100	46.540	198.680	152.160	175.300
	BKGD	27.060	11.660	15.900	17.120	16.580
	P/B	8.171	3.991	12.496	8.888	10.573
P *k-alfa	CPS	527.060	276.760	532.780	417.000	484.400
	BKGD	34.380	20.140	19.440	24.780	19.800
	P/B	15.330	13.742	27.406	16.828	24.465
S *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	43.480	57.840	70.500	31.460	84.800
	BKGD	23.040	15.800	22.500	21.980	20.900
	P/B	1.887	3.661	3.133	1.431	4.057
Ca *k-alfa	CPS	14.340	264.700	-	-	-
	BKGD	19.600	13.960	-	-	-
	P/B	0.732	18.961	-	-	-

**TABLA V<sub>8</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 8 (W-48)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbitai						
Na *K-alfa	CPS	-	1.500	-	1.500	2.240
	BKGD	-	9.080	-	11.860	10.520
	P/B	-	0.165	-	0.126	0.213
Mg *k-alfa	CPS	63.220	64.500	169.540	84.040	54.240
	BKGD	10.460	14.920	24.600	18.720	17.400
	P/B	6.044	4.323	6.892	4.489	3.117
P *k-alfa	CPS	172.520	181.420	371.160	225.200	161.740
	BKGD	16.980	23.940	26.880	34.560	19.640
	P/B	10.160	7.578	13.808	6.516	8.235
S *k-alfa	CPS	5.240	8.240	12.700	8.680	25.980
	BKGD	17.840	24.380	22.800	35.620	17.960
	P/B	0.294	0.338	0.557	0.244	1.447
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	1.920
	BKGD	-	-	-	-	16.480
	P/B	-	-	-	-	0.117
K *k-alfa	CPS	-	-	6.670	9.260	12.300
	BKGD	-	-	25.480	24.060	16.660
	P/B	-	-	0.265	0.385	0.738
Ca *k-alfa	CPS	23.980	53.900	12.500	72.420	48.280
	BKGD	17.100	20.160	24.320	19.920	15.580
	P/B	1.402	2.674	0.514	3.636	3.099

**TABLA V<sub>0</sub>: M-1 (Análisis general) : LITIASIS 9 (W-49)**

ELEMENTO *orbital		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	4.280	0.800	-	6.920	1.440
	BKGD	14.660	18.560	-	12.980	12.780
	P/B	0.292	0.043	-	0.533	0.113
Mg *k-alfa	CPS	126.840	111.600	134.720	97.940	152.900
	BKGD	23.080	23.080	19.100	21.120	20.600
	P/B	5.496	4.835	7.053	4.637	7.422
P *k-alfa	CPS	345.040	337.480	393.640	292.940	417.340
	BKGD	36.040	36.420	25.060	36.640	24.960
	P/B	9.574	9.266	15.708	7.995	16.720
S *k-alfa	CPS	8.480	24.680	11.540	22.500	16.220
	BKGD	35.880	36.160	22.640	35.960	22.120
	P/B	0.236	0.683	0.510	0.626	0.733
Cl *k-alfa	CPS	6.860	20.900	10.440	20.140	13.720
	BKGD	30.500	31.520	20.640	30.280	21.940
	P/B	0.225	0.663	0.506	0.665	0.625
K *k-alfa	CPS	30.860	52.880	29.360	53.140	26.820
	BKGD	25.880	28.420	20.500	25.260	26.820
	P/B	1.192	1.861	1.432	2.104	1.000
Ca *k-alfa	CPS	42.400	16.760	13.240	7.680	1.280
	BKGD	22.080	25.040	19.000	21.580	25.640
	P/B	1.920	0.669	0.697	0.356	0.050



**TABLA V<sub>10</sub>: M-1 (Análisis general):LITIASIS 10 (W-50)**

ELEMENTO *orbital		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	224.540	200.740	200.640	247.160	277.660
	BKGD	19.080	18.400	17.100	21.220	21.220
	P/B	11.768	10.910	11.733	11.648	13.085
P *k-alfa	CPS	497.680	459.400	543.960	641.060	655.400
	BKGD	21.700	18.980	17.080	24.260	18.140
	P/B	22.935	24.204	31.848	26.425	36.130
S *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	0.940	-
	BKGD	-	-	-	21.320	-
	P/B	-	-	-	0.044	-
K *k-alfa	CPS	18.260	28.700	68.900	58.160	58.660
	BKGD	28.220	16.140	24.800	22.080	21.840
	P/B	0.647	1.778	2.778	2.634	2.686
Ca *k-alfa	CPS	154.340	123.980	0.940	7.700	5.040
	BKGD	24.260	15.060	23.680	19.960	20.720
	P/B	6.362	8.232	0.040	0.386	0.243

**TABLA V<sub>11</sub>: M-1 (Análisis general): LITIASIS 11 (W-55)**

ELEMENTO *orbital		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	-	7.840	-	-	2.960
	BKG	-	18.220	-	-	17.720
	P/B	-	0.430	-	-	0.167
Mg *k-alfa	CPS	54.240	51.620	100.660	100.500	120.000
	BKG	26.560	29.640	28.380	27.940	28.600
	P/B	2.042	1.742	3.547	3.597	4.196
P *k-alfa	CPS	223.080	202.000	284.620	261.980	301.760
	BKG	29.940	36.220	33.840	32.280	32.760
	P/B	7.451	5.577	8.411	8.116	9.211
S *k-alfa	CPS	46.540	55.040	40.660	26.880	39.580
	BKG	29.160	34.260	33.560	29.940	29.780
	P/B	1.586	1.607	1.212	0.898	1.329
Cl k-alfa	CPS	17.920	18.180	11.200	9.720	10.960
	BKG	28.340	32.420	31.900	26.900	27.160
	P/B	0.632	0.561	0.351	0.361	0.404
K *k-alfa	CPS	51.100	57.180	46.140	38.260	36.660
	BKG	28.500	29.200	28.360	24.880	26.340
	P/B	1.793	1.958	1.627	1.538	1.392
Ca *k-alfa	CPS	173.380	141.880	87.380	88.160	108.600
	BKG	25.980	24.840	24.840	22.260	24.060
	P/B	6.674	5.712	3.518	3.960	4.514

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 1 (W-10)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	0.940	-	-	2.000	4.660
	BKGD	10.660	-	-	16.500	20.400
	P/B	0.088	-	-	0.121	0.228
Mg *k-alfa	CPS	152.940	254.100	321.880	322.540	340.140
	BKGD	17.800	21.920	22.060	24.360	29.320
	P/B	8.592	11.592	14.591	13.241	11.601
P *k-alfa	CPS	565.480	692.160	675.280	557.460	631.780
	BKGD	25.440	27.680	33.120	23.840	31.240
	P/B	22.228	25.006	20.389	23.383	20.223
S *k-alfa	CPS	4.060	-	-	-	3.320
	BKGD	25.120	-	-	-	28.020
	P/B	0.162	-	-	-	0.118
Cl *k-alfa	CPS	2.720	-	-	-	-
	BKGD	23.720	-	-	-	-
	P/B	0.115	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	60.480	17.500	13.040	14.400	24.360
	BKGD	25.000	23.100	17.700	14.860	20.020
	P/B	2.419	0.758	0.737	0.969	1.217
Ca *k-alfa	CPS	11.280	6.040	7.480	6.820	12.460
	BKGD	22.840	20.680	14.540	12.600	17.000
	P/B	0.494	0.292	0.514	0.541	0.733

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 2 (W-33)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	269.740	263.600	236.320	207.580	235.260
	BKGD	21.580	21.400	17.380	15.960	21.660
	P/B	12.500	12.318	13.597	13.006	10.861
P *k-alfa	CPS	682.400	641.800	929.360	610.620	625.500
	BKGD	20.800	30.400	19.460	13.980	21.580
	P/B	32.808	21.112	32.372	43.678	28.985
S *k-alfa	CPS	-	-	-	-	0.780
	BKGD	-	-	-	-	16.060
	P/B	-	-	-	-	0.049
Cl *k-alfa	CPS	1.960	-	-	-	-
	BKGD	13.900	-	-	-	-
	P/B	0.141	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	32.640	34.160	50.500	17.400	45.600
	BKGD	19.140	19.860	19.020	16.480	18.200
	P/B	1.705	1.720	2.655	1.056	2.505
Ca *k-alfa	CPS	1.360	8.200	4.600	5.620	-
	BKGD	18.800	16.480	17.320	15.960	-
	P/B	0.072	0.498	0.266	0.352	-

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 3 (W-41)**

ELEMENTO + orbital		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	1.860	1.180
	BKGD	-	-	-	15.600	13.340
	P/B	-	-	-	0.119	0.088
Mg *k-alfa	CPS	248.760	261.560	284.540	346.000	294.260
	BKGD	18.660	19.280	20.200	22.420	20.900
	P/B	13.331	13.566	14.086	15.433	14.079
P *k-alfa	CPS	605.640	643.720	628.200	620.760	647.000
	BKGD	15.660	20.460	32.880	20.180	19.340
	P/B	38.674	31.462	19.106	30.761	33.454
S *k-alfa	CPS	-	-	-	-	1.400
	BKGD	-	-	-	-	14.080
	P/B	-	-	-	-	0.099
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	1.120
	BKGD	-	-	-	-	12.620
	P/B	-	-	-	-	0.089
K *k-alfa	CPS	27.580	-	26.080	25.280	20.520
	BKGD	15.680	-	18.760	14.900	13.460
	P/B	1.759	-	1.390	1.697	1.525
Ca *k-alfa	CPS	2.540	5.200	1.360	3.620	12.500
	BKGD	14.620	23.820	15.260	13.360	12.880
	P/B	0.174	0.218	0.089	0.271	0.970

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 4 (W-42)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	3.140	2.320	4.080	1.960	3.560
	BKGD	25.700	16.260	17.560	12.760	10.160
	P/B	0.122	0.143	0.232	0.154	0.350
Mg *k-alfa	CPS	476.460	165.820	313.340	100.820	170.360
	BKGD	38.680	20.280	26.780	16.560	15.820
	P/B	12.318	8.177	11.701	6.088	10.769
P *k-alfa	CPS	979.840	331.220	684.560	324.680	464.600
	BKGD	25.500	24.000	31.260	27.720	21.360
	P/B	1.547	13.801	22.219	11.713	21.751
S *k-alfa	CPS	-	5.040	1.500	15.980	2.060
	BKGD	-	22.420	28.640	27.160	20.460
	P/B	-	0.225	0.052	0.588	0.101
Cl *k-alfa	CPS	-	1.480	2.360	11.000	1.000
	BKGD	-	18.000	24.740	22.260	17.640
	P/B	-	0.082	0.095	0.494	0.057
K *k-alfa	CPS	39.440	20.320	35.780	42.180	26.200
	BKGD	25.500	13.240	21.820	17.320	15.460
	P/B	1.547	1.535	1.640	2.435	1.695
Ca *k-alfa	CPS	-	0.580	6.300	-	3.000
	BKGD	-	10.680	18.900	-	13.480
	P/B	-	0.054	0.333	-	0.223

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 5 (W-45)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	62.680	12.280	61.020	1.580	2.460
	BKGD	23.280	19.660	25.040	14.280	9.220
	P/B	2.692	0.625	2.437	0.111	0.267
Mg *k-alfa	CPS	258.400	272.640	207.920	193.840	114.080
	BKGD	29.780	24.820	30.980	18.220	14.740
	P/B	8.677	10.985	6.711	10.639	7.739
P *k-alfa	CPS	513.240	609.340	551.180	530.540	478.920
	BKGD	40.160	28.940	31.820	20.020	29.880
	P/B	12.780	21.055	17.322	26.500	16.028
S *k-alfa	CPS	4.820	5.740	92.400	-	-
	BKGD	38.040	27.480	30.000	-	-
	P/B	0.127	0.209	3.080	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	3.520	-	-
	BKGL	-	-	27.440	-	-
	P/B	-	-	0.128	-	-
K *k-alfa	CPS	35.420	22.960	36.220	19.280	41.720
	BKGD	24.360	20.520	22.740	16.160	22.160
	P/B	1.454	1.119	1.593	1.193	1.883
Ca *k-alfa	CPS	11.020	4.720	3.300	6.820	2.300
	BKGD	20.160	17.580	19.080	14.360	19.280
	P/B	0.547	0.268	0.173	0.475	0.119

**TABLA VI6**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 6 (W-46)**

**ELEMENTO**  
**\*orbital**

		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	1.540	-	-	2.420	-
	BKGD	14.160	-	-	14.700	-
	P/B	0.109	-	-	0.165	-
Mg *k-alfa	CPS	260.940	291.320	307.980	256.100	249.060
	BKGD	22.800	27.700	24.760	22.200	23.080
	P/B	11.445	10.517	12.439	11.536	10.791
P *k-alfa	CPS	615.600	634.500	662.500	598.880	527.040
	BKGD	29.220	31.520	24.220	25.820	32.300
	P/B	21.068	20.130	27.353	23.194	16.317
S *k-alfa	CPS	5.160	9.600	-	-	-
	BKGD	27.140	27.400	-	-	-
	P/B	0.190	0.350	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	37.040	22.620	56.120	44.560	20.880
	BKGD	18.920	23.820	17.060	17.840	18.500
	P/B	1.958	0.972	3.290	2.498	1.129
Ca *k-alfa	CPS	1.040	0.800	-	0.920	2.240
	BKGD	16.220	20.760	-	15.420	15.260
	P/B	0.064	0.039	-	0.060	0.147



**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 7 (W-47)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	178.280	317.160	329.680	226.540	172.240
	BKGD	13.480	27.340	24.680	18.120	14.820
	P/B	13.226	11.601	13.358	12.502	11.622
P *k-alfa	CPS	468.720	621.300	729.600	579.140	522.160
	BKGD	21.300	24.760	22.640	25.560	13.540
	P/B	22.006	25.093	32.350	22.658	38.664
S *k-alfa	CPS	-	1.420	-	-	-
	BKGD	-	17.060	-	-	-
	P/B	-	0.083	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	2.100	-	-	-
	BKGD	-	14.300	-	-	-
	P/B	-	0.147	-	-	-
K *k-alfa	CPS	70.660	117.680	34.740	77.620	65.720
	BKGD	19.300	15.380	19.900	19.840	17.220
	P/B	3.661	7.651	1.746	3.912	3.816
Ca *k-alfa	CPS	-	6.440	-	-	-
	BKGD	-	14.740	-	-	-
	P/B	-	0.437	-	-	-

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 8 (W-48)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*k-alfa						
Na	CPS	-	2.620	-	-	-
	BKGD	-	13.620	-	-	-
	P/B	-	0.192	-	-	-
Mg	CPS	202.100	233.740	174.660	208.460	283.960
	BKGD	24.700	21.100	19.720	28.600	25.780
	P/B	8.182	11.078	8.857	7.289	11.015
P	CPS	467.780	514.200	550.780	457.580	620.720
	BKGD	21.920	28.080	26.040	35.760	33.360
	P/B	21.340	18.312	21.151	12.796	18.607
S	CPS	-	1.040	-	7.700	-
	BKGD	-	26.840	-	33.720	-
	P/B	-	0.039	-	0.228	-
Cl	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K	CPS	34.420	16.460	-	18.980	1.040
	BKGD	21.560	17.220	-	22.960	24.520
	P/B	1.596	0.956	-	0.827	0.042
Ca	CPS	-	31.800	11.960	47.300	42.960
	BKGD	-	13.880	22.780	19.080	21.480
	P/B	-	2.291	0.525	2.479	2.000

**TABLA VI,**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 9 (W-42)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	0.560	-	0.940	-
	BKGD	-	11.880	-	15.120	-
	P/B	-	0.047	-	0.062	-
Mg *k-alfa	CPS	250.360	204.480	219.840	255.120	276.480
	BKGD	24.220	20.720	19.680	22.720	30.720
	P/B	10.337	9.869	11.171	11.229	9.000
P *k-alfa	CPS	608.020	583.640	542.080	559.080	561.420
	BKGD	27.680	25.380	23.880	24.300	32.680
	P/B	21.966	22.996	22.700	23.007	17.179
S *k-alfa	CPS	-	2.820	2.240	-	13.420
	BKGD	-	23.000	22.460	-	28.800
	P/B	-	0.123	0.100	-	0.466
Cl *k-alfa	CPS	1.620	2.180	6.120	-	4.280
	BKGD	20.700	20.340	19.160	-	25.400
	P/B	0.078	0.107	0.319	-	0.169
K *k-alfa	CPS	36.780	28.580	16.220	18.380	39.020
	BKGD	17.080	18.960	16.380	19.820	23.320
	P/B	2.153	1.507	0.990	0.927	1.673
Ca *k-alfa	CPS	-	1.040	4.440	2.520	3.460
	BKGD	-	16.700	14.020	17.520	20.200
	P/B	-	0.062	0.317	0.144	0.171

**TABLA VI<sub>10</sub>**  
**M-2a: Análisis selectivo estructura POLIEDRO**  
**LITIASIS 10 (W-50)**

**ELEMENTO**

**\*orbital**

**A-1**

**A-2**

**A-3**

**A-4**

**A-5**

ELEMENTO	*orbital	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	231.320	311.180	193.660	211.680	266.560
	BKGD	17.120	24.880	16.700	18.880	21.200
	P/B	13.512	12.507	11.596	11.212	12.574
P *k-alfa	CPS	563.080	658.520	611.400	623.720	648.460
	BKGD	16.640	21.240	14.080	28.860	30.240
	P/E	33.839	31.004	43.423	21.612	21.444
S *k-alfa	CPS	-	-	780	-	-
	BKGD	-	-	11.920	-	-
	P/B	-	-	0.065	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKGD	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	40.080	58.240	58.940	89.760	88.600
	BKGD	17.360	17.580	19.280	25.680	34.860
	P/B	2.309	3.313	3.057	3.950	2.542
Ca *k-alfa	CPS	-	3.100	5.120	-	-
	BKGD	-	16.040	18.760	-	-
	P/B	-	0.193	0.273	-	-

**TABLA VI<sub>11</sub>**  
**M-2a: Análisis selectivo estructural POLIEDRO**  
**LITIASIS 11 (W-55)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	3.180	2.600	-	1.460	1.080
	BKGD	18.580	19.420	-	15.440	16.180
	P/B	0.171	0.134	-	0.095	0.067
Mg *k-alfa	CPS	313.360	422.320	324.720	325.360	356.880
	BKGD	27.980	27.860	22.420	24.660	24.340
	P/B	11.199	15.159	14.483	13.194	14.662
P *k-alfa	CPS	599.220	724.660	689.800	663.680	665.960
	BKGD	32.960	26.360	24.260	21.740	35.920
	P/B	18.180	27.491	28.434	30.528	18.540
S *k-alfa	CPS	2.080	-	-	1.380	-
	BKGD	30.440	-	-	15.920	-
	P/B	0.068	-	-	0.087	-
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	1.106	-
	BKGD	-	-	-	14.920	-
	P/B	-	-	-	0.074	-
K *k-alfa	CPS	7.700	16.040	-	6.220	-
	BKGD	23.780	17.360	-	17.080	-
	P/B	0.324	0.924	-	0.364	-
Ca *k-alfa	CPS	40.680	3.980	-	5.420	-
	BKGD	20.920	14.760	-	15.680	-
	P/B	1.945	0.270	-	0.346	-

**TABLA VII,**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 1 (W-10)**

ELEMENTO *orbital		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
Na *k-alfa	CPS	-	-	1.380	-	1.740
	BKG	-	-	11.360	-	12.060
	P/B	-	-	0.121	-	0.144
Mg *k-alfa	CPS	11.340	5.060	31.780	36.530	56.200
	BKG	9.040	4.800	17.920	19.340	18.500
	P/B	1.254	1.054	1.773	1.888	3.038
P *k-alfa	CPS	15.160	18.440	23.080	125.020	109.280
	BKG	19.280	15.860	26.160	26.320	27.180
	P/B	0.786	1.163	0.882	4.750	4.012
S *k-alfa	CPS	-	-	0.940	8.520	1.860
	BKG	-	-	26.100	24.920	25.920
	P/B	-	-	0.035	0.342	0.072
Cl *k-alfa	CPS	-	0.840	2.140	2.760	2.120
	BKG	-	21.100	22.080	21.780	21.480
	P/B	-	0.040	0.097	0.127	0.099
K *k-alfa	CPS	7.120	3.900	10.880	14.949	17.060
	BKG	22.060	27.340	17.830	18.200	17.060
	P/B	0.323	0.143	0.611	0.621	1.000
Ca *k-alfa	CPS	640.700	711.200	647.600	652.020	682.160
	BKG	18.160	23.800	14.700	15.360	13.960
	P/B	35.281	29.882	44.054	42.449	48.865

**TABLA VII,**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 2 (w-33)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	0.860	5.060	-	0.320	-
	BKG	1.900	13.300	-	4.480	-
	P/B	0.453	0.380	-	0.071	-
Mg *k-alfa	CPS	6.870	17.760	70.320	7.140	4.620
	BKG	2.760	16.420	15.120	6.380	4.780
	P/B	2.457	1.082	4.551	1.119	0.967
P *k-alfa	CPS	30.860	250.760	205.720	91.200	108.100
	BKG	4.320	20.160	19.460	11.600	8.320
	P/B	7.144	12.438	10.571	7.962	12.993
S *k-alfa	CPS	-	1.380	-	-	-
	BKG	-	19.440	-	-	-
	P/B	-	0.071	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	1.400	-	-	2.440
	BKG	-	17.040	-	-	9.800
	P/B	-	0.082	-	-	0.249
K *k-alfa	CPS	-	33.580	18.500	2.440	22.240
	BKG	-	15.500	14.520	28.160	12.640
	P/B	-	2.166	1.427	0.087	1.759
Ca *k-alfa	CPS	491.300	591.580	558.500	711.900	645.320
	BKG	15.960	13.740	12.940	23.520	13.100
	P/B	30.783	43.055	43.160	30.680	49.261

**TABLA VII,**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 3 (W-41)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	0.780	1.660	0.516	1.060	2.620
	BKG	10.700	12.080	10.780	12.860	13.800
	P/B	0.073	0.137	0.048	0.082	0.190
Mg *k-alfa	CPS	26.100	33.520	32.315	26.280	46.100
	BKG	16.440	18.860	16.550	17.000	17.520
	P/B	1.588	1.777	1.953	1.546	2.631
P *k-alfa	CPS	37.680	41.640	28.141	301.300	283.640
	BKG	22.320	27.340	22.689	22.980	21.800
	P/B	1.688	1.523	1.240	13.111	13.131
S *k-alfa	CPS	1.500	-	-	4.340	3.320
	BKG	22.080	-	-	22.320	20.420
	P/B	0.068	-	-	0.194	0.163
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	11.840	11.720
	BKG	-	-	-	19.040	17.040
	P/B	-	-	-	0.622	0.688
K *k-alfa	CPS	-	1.800	-	56.600	47.240
	BKG	-	29.440	-	16.380	13.800
	P/B	-	0.061	-	3.455	3.423
Ca *k-alfa	CPS	729.360	770.320	650.156	395.800	369.920
	BKG	20.160	24.380	20.789	14.030	11.400
	P/B	36.179	31.596	31.260	27.131	32.449



**TABLA VII**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 4 (W-42)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	0.620	-	5.500
	BKG	-	-	8.180	-	12.160
	P/B	-	-	0.076	-	0.452
Mg *k-alfa	CPS	12.940	26.700	19.720	11.960	40.800
	BKG	24.640	19.720	13.860	4.100	18.160
	P/B	0.525	1.354	1.423	2.917	2.224
P *k-alfa	CPS	38.380	78.580	34.100	21.400	32.660
	BKG	28.820	26.260	19.920	9.340	23.580
	P/B	1.332	2.952	1.712	2.291	1.385
S *k-alfa	CPS	-	5.580	1.880	-	5.140
	BKG	-	25.680	19.800	-	21.240
	P/B	-	0.217	0.095	-	0.242
Cl *k-alfa	CPS	4.600	9.880	-	-	5.260
	BKG	22.860	22.500	-	-	16.700
	P/B	0.201	0.439	-	-	0.281
K *k-alfa	CPS	12.800	23.760	2.460	-	11.840
	BKG	19.080	19.120	24.840	-	15.960
	P/B	0.671	1.243	0.099	-	0.742
Ca *k-alfa	CPS	599.340	590.220	504.880	515.840	366.620
	BKG	16.100	16.320	20.340	22.120	13.640
	P/B	37.266	36.165	24.822	22.320	26.878

**TABLA VII,**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 5 (W-45)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	5.820	3.840	3.860	2.740	5.120
	BKG	18.800	14.280	15.400	5.560	17.720
	P/B	0.310	0.269	0.251	0.493	0.289
Mg *k-alfa	CPS	100.400	83.080	62.980	37.520	41.600
	BKG	23.960	17.800	19.060	8.080	21.960
	P/B	4.190	4.667	3.304	4.644	1.894
P *k-alfa	CPS	414.260	317.400	228.880	84.440	304.480
	BKG	35.880	27.360	23.520	16.880	29.360
	P/B	11.546	11.601	9.731	5.002	10.371
S *k-alfa	CPS	21.920	1.120	1.580	-	1.300
	BKG	34.560	26.600	22.920	-	28.700
	P/B	0.634	0.042	0.069	-	0.045
Cl *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKG	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	27.020	28.120	8.420	-	-
	BKG	21.700	27.400	15.920	-	-
	P/B	1.245	1.616	0.529	-	-
Ca *k-alfa	CPS	302.920	422.120	440.860	637.960	414.260
	BKG	17.340	14.220	13.360	27.580	19.700
	P/B	17.469	29.685	32.999	23.131	21.028

**TABLA VII.**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 6 (W-46)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	0.860	2.340	1.660	-	1.080
	BKG	15.320	13.940	14.620	-	8.200
	P/B	0.056	0.168	0.114	-	0.132
Mg *k-alfa	CPS	17.560	28.040	27.740	89.640	11.600
	BKG	18.920	17.200	18.200	18.860	13.160
	P/B	0.928	1.630	1.524	5.283	0.881
P *k-alfa	CPS	294.100	308.380	298.560	381.180	257.560
	BKG	23.280	19.920	22.800	17.260	16.560
	P/B	12.633	15.481	13.095	22.085	15.553
S *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKG	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	-	1.740	-	2.580	2.860
	BKG	-	15.640	-	13.420	13.800
	P/B	-	0.111	-	0.192	0.207
K *k-alfa	CPS	36.700	35.960	35.940	34.300	37.580
	BKG	13.160	12.680	14.380	11.920	12.500
	P/B	2.789	2.836	2.499	2.878	3.006
Ca *k-alfa	CPS	419.120	395.020	432.180	272.740	483.280
	BKG	10.320	10.520	11.900	10.440	11.040
	P/B	40.612	37.549	36.318	26.125	43.775

**TABLA VII,**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 7 (W-47)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKG	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	9.440	21.220	12.520	35.040	34.460
	BKG	19.780	24.720	16.020	18.400	17.440
	P/B	0.477	0.858	0.782	1.904	1.976
P *k-alfa	CPS	313.780	367.440	302.820	355.080	327.340
	BKG	22.280	25.360	22.400	25.080	21.340
	P/B	14.083	14.489	13.519	14.158	15.339
S *k-alfa	CPS	2.080	-	-	-	-
	BKG	20.760	-	-	-	-
	P/B	0.100	-	-	-	-
Cl *k-alfa	CPS	1.440	-	-	-	-
	BKG	17.420	-	-	-	-
	P/B	0.083	-	-	-	-
K *k-alfa	CPS	52.540	49.040	49.320	43.760	42.060
	BKG	14.300	16.260	14.840	16.160	13.720
	P/B	3.674	3.015	3.323	2.780	3.066
Ca *k-alfa	CPS	487.820	499.100	535.160	436.660	397.920
	BKG	11.960	13.820	12.360	13.360	11.540
	P/B	40.788	36.114	42.489	32.684	34.482

**TABLA VII.**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 8 (W-48)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	4.600	1.860	3.820
	BKG	-	-	16.860	23.600	19.520
	P/B	-	-	0.271	0.079	0.196
Mg *k-alfa	CPS	12.780	11.980	2.740	2.640	3.540
	BKG	23.020	23.900	27.240	29.780	30.800
	P/B	0.555	0.501	0.101	0.089	0.115
P *k-alfa	CPS	347.320	272.140	288.760	304.120	305.860
	BKG	32.500	28.680	34.960	40.180	42.480
	P/B	10.687	9.489	8.260	7.569	7.200
S *k-alfa	CPS	9.860	33.600	17.020	18.320	17.140
	BKG	31.520	24.960	32.560	30.440	39.540
	P/B	0.313	1.346	0.523	0.602	0.433
Cl *k-alfa	CPS	-	2.700	-	3.920	-
	BKG	-	21.780	-	22.200	-
	P/B	-	0.124	-	0.177	-
K *k-alfa	CPS	24.020	29.600	18.940	25.220	20.800
	BKG	23.280	19.740	21.840	17.400	24.920
	P/B	1.032	1.499	0.867	1.449	0.350
Ca *k-alfa	CPS	320.360	286.220	385.780	391.860	384.069
	BKG	20.080	17.440	18.060	14.680	19.900
	P/B	15.954	16.412	21.361	26.693	19.299

**TABLA VII.**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 9 (W-49)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	1.640	15.720	-	1-320	-
	BKG	10.620	17.340	-	20.460	-
	P/B	0.154	0.907	-	0.065	-
Mg *k-alfa	CPS	9.080	1.520	45.160	63.540	14.060
	BKG	16.780	26.680	11.980	30.720	25.240
	P/B	0.541	0.057	3.770	2.068	0.552
P *k-alfa	CPS	71.980	175.400	88.840	42.380	252.460
	BKG	21.540	29.400	18.920	32.100	28.060
	P/B	3.342	5.966	4.696	1.320	9.068
S *k-alfa	CPS	14.580	36.240	-	2.780	19.720
	BKG	20.500	27.280	-	29.200	24.460
	P/B	0.711	1.328	-	0.095	0.806
Cl *k-alfa	CPS	9.160	25.280	0.680	-	10.600
	BKG	18.630	25.360	16.160	-	21.320
	P/B	0.495	0.997	0.042	-	0.497
K *k-alfa	CPS	39.340	70.620	11.900	3.780	31.220
	BKG	14.760	22.640	14.080	25.280	18.320
	P/B	2.665	3.119	0.845	0.150	1.704
Ca *k-alfa	CPS	513.200	128.980	475.640	473.360	168.580
	BKG	12.080	19.620	12.240	21.340	15.560
	P/B	42.483	6.697	38.851	22.182	10.834

**TABLA VII<sub>10</sub>**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 10 (W-50)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	-	-	-	-	-
	BKG	-	-	-	-	-
	P/B	-	-	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	27.500	42.400	30.060	45.040	50.080
	BKG	11.840	19.280	11.360	19.280	19.600
	P/B	2.323	2.199	2.646	2.336	2.555
P *k-alfa	CPS	240.240	257.960	258.580	264.740	186.100
	BKG	22.160	24.900	23.480	27.660	31.680
	P/B	10.841	10.360	11.013	9.571	5.874
S *k-alfa	CPS	3.060	7.020	2.640	9.220	5.620
	BKG	22.460	23.340	23.660	26.980	31.720
	P/B	0.136	0.301	0.112	0.342	0.174
Cl *k-alfa	CPS	12.260	12.540	10.840	17.480	10.360
	BKG	19.560	20.400	19.980	23.340	26.240
	P/B	0.627	0.615	0.543	0.749	0.395
K *k-alfa	CPS	64.940	55.500	58.700	70.800	51.300
	BKG	17.560	17.560	16.740	19.000	20.880
	P/B	3.698	3.161	3.507	3.726	2.457
Ca *k-alfa	CPS	544.580	467.760	442.220	524.300	556.360
	BKG	15.440	15.100	14.160	15.740	17.060
	P/B	35.271	30.977	31.230	33.103	32.612

**TABLA VII<sub>11</sub>**  
**M-2b: Análisis selectivo estructura GRANULO**  
**LITIASIS 11 (W-55)**

ELEMENTO		A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
*orbital						
Na *k-alfa	CPS	9.100	-	-	4.480	6.700
	BKG	23.020	-	-	28.900	18.860
	P/B	0.395	-	-	0.155	0.355
Mg *k-alfa	CPS	7.120	24.060	46.460	16.220	101.520
	BKG	28.800	20.700	18.700	36.780	28.560
	P/B	0.247	1.162	2.484	0.458	3.555
P *k-alfa	CPS	287.100	152.360	77.400	339.630	351.560
	BKG	28.240	28.300	29.880	46.140	44.500
	P/B	10.166	5.403	2.592	7.361	7.900
S *k-alfa	CPS	37.540	34.960	8.160	19.920	17.520
	BKG	25.820	28.900	29.340	43.520	42.600
	P/B	1.454	1.210	0.278	0.458	0.411
Cl *k-alfa	CPS	27.620	8.120	10.400	11.500	7.240
	BKG	23.700	27.440	24.620	35.600	34.440
	P/B	0.743	0.296	0.422	0.323	0.210
K *k-alfa	CPS	53.340	49.780	29.420	47.980	40.920
	BKG	21.180	23.320	20.300	27.560	25.760
	P/B	2.518	2.135	1.449	1.741	1.589
Ca *k-alfa	CPS	370.120	332.740	512.920	482.180	290.260
	BKG	18.140	19.880	16.960	22.120	20.160
	P/B	20.404	16.737	30.243	21.844	14.398



**TABLA VIII.**

**ESTUDIO ESTADISTICO DEL PARAMETRO "PESO"**

TABLA VIII<sub>1</sub>

Hipótesis de contraste entre grupo "diseño" y otros.

PESO	G.E.	G.T.	0/1	0/2
$\bar{x}$	179.933	154.806	162.000	127.704
DS	47.387	42.397	30.240	29.813

p	G.T.	0/1	0/2
G.E.	<0.05	N.S.	<0.001

TABLA VIII<sub>2</sub>

Hipótesis de contraste entre los grupos experimentales

PESO	C	I	II	III	IV	V
$\bar{x}$	158	163.2	167.6	183.8	204.6	200.4
DS	17.621	46.316	44.309	42.020	41.542	26.021

p	PESO	I	II	III	IV	V
	C	N.S.	N.S.	N.S.	<0.01	<0.001
		I	N.S.	<0.05	<0.01	<0.01
			II	N.S.	<0.05	<0.01
				III	N.S.	<0.01
					IV	N.S.

$\bar{x}$  = media aritmética  
 DS = desviación standard  
 p = probabilidad estadística

**TABLA IX<sub>1</sub>: RESULTADOS ESTADISTICOS L-1 (W-10)**  
**ELEMENTO IND. EST M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	1.964	1.520	0.624
		DS	1.326	1.773	0.772
	P/B	$\bar{x}$	0.128	0.107	0.053
		DS	0.079	0.085	0.065
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	212.376	278.320	28.180
		DS	30.671	69.255	18.361
	P/B	$\bar{x}$	9.030	10.486	1.801
		DS	1.085	2.224	0.692
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	456.168	624.432	58.232
		DS	42.358	55.112	48.507
	P/B	$\bar{x}$	15.681	18.823	2.320
		DS	2.329	4.244	1.706
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	0.656	1.476	2.264
		DS	0.965	1.822	3.203
	P/B	$\bar{x}$	0.024	0.041	0.090
		DS	0.037	0.060	0.128
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.544	1.572
		DS	-	1.088	1.004
	P/B	$\bar{x}$	-	0,011	0,072
		DS	-	0,036	0,046
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	22.520	26.016	10.780
		DS	24.524	17.816	4.847
	P/B	$\bar{x}$	0.996	1.108	0.579
		DS	0.194	0.497	0.313
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	11.458	8.924	66.673
		DS	3.720	2.672	26.365
	P/B	$\bar{x}$	0.584	0.549	40.000
		DS	0.228	0.188	6.731

**TABLA IX<sub>2</sub>: RESULTADOS ESTADISTICOS L-2 (W-33)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	0.900	-	1.248
		DS	0.456	-	1.931
	P/B	$\bar{x}$	0.074	-	0.180
		DS	0.037	-	0.195
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	186.104	242.500	21.324
		DS	38.890	22.348	24.920
	P/B	$\bar{x}$	9.259	10.858	2.055
		DS	2.283	2.370	1.407
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	500.428	697.936	137.328
		DS	75.819	118.170	79.827
	P/B	$\bar{x}$	20.415	26.103	10.2016
		DS	4.634	8.654	2.355
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	1.380	0.031	0.276
		DS	2.327	0.062	0.552
	P/B	$\bar{x}$	0.055	0.033	0.014
		DS	0.091	0.073	0.028
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.392	0.768
		DS	-	0.784	0.996
	P/B	$\bar{x}$	-	0.014	0.066
		DS	-	0.044	0.096
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	42.032	36.060	15.352
		DS	4.651	11.515	12.585
	P/B	$\bar{x}$	1.886	1.907	1.057
		DS	0.433	0.543	0.874
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	29.884	3.956	599.720
		DS	16.052	2.952	75.078
	P/B	$\bar{x}$	1.476	0.856	39.305
		DS	0.809	0.857	7.514

**TABLA IX.3: RESULTADOS ESTADISTICOS L-3 (W-41)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/Gral. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	1.036	0.608	1.327
		DS	1.321	0.775	0.749
	P/B	$\bar{x}$	0.086	0.083	0.175
		DS	0.109	0.111	0.166
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	243.332	287.024	32.863
		DS	31.2945	33.613	7.280
	P/B	$\bar{x}$	9.460	12.879	1.606
		DS	4.741	1.500	0.561
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	550.324	629.064	138.480
		DS	60.795	15.197	125.932
	P/B	$\bar{x}$	23.891	27.2912	8.018
		DS	4.255	6.768	5.123
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.280	0.1832
		DS	-	0.560	1.750
	P/B	$\bar{x}$	-	0.099	0.113
		DS	-	0.031	0.085
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.224	4.712
		DS	-	0.448	5.771
	P/B	$\bar{x}$	-	0.008	0.335
		DS	-	0.028	0.282
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	24.964	19.892	21.128
		DS	31.825	10.222	25.323
	P/B	$\bar{x}$	1.360	1.317	2.148
		DS	0.296	0.534	1.655
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	19.162	5.044	583.111
		DS	12.279	3.936	168.206
	P/B	$\bar{x}$	1.120	0.732	32.300
		DS	0.605	0.653	2.487

**TABLA IX.: RESULTADOS ESTADISTICOS L-4(W-42)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	8.088	3.012	1.224
		DS	3.377	0.780	2.151
	P/B	$\bar{x}$	0.428	0.368	0.105
		DS	0.293	0.254	0.175
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	43.296	243.362	22.340
		DS	34.220	133.860	10.463
	P/B	$\bar{x}$	2.263	6.036	1.688
		DS	1.482	4.453	0.816
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	147.464	556.980	41.024
		DS	69.794	248.415	19.598
	P/B	$\bar{x}$	11.852	12.663	1.934
		DS	4.041	7.459	0.612
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	31.408	4.916	2.520
		DS	9.105	5.769	2.422
	P/B	$\bar{x}$	1.537	0.865	0.110
		DS	0.450	0.799	0.103
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	19.540	3.168	3.948
		DS	6.238	3.989	3.701
	P/B	$\bar{x}$	1.015	0.580	0.184
		DS	0.288	0.523	0.168
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	35.180	32.784	10.172
		DS	7.168	8.249	8.453
	P/B	$\bar{x}$	2.051	1.911	0.551
		DS	0.291	0.363	0.455
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	10.868	1.976	515.580
		DS	3.756	2.429	83.714
	P/B	$\bar{x}$	0.725	0.431	29.682
		DS	0.209	0.371	5.846

**TABLA IX.: RESULTADOS ESTADISTICOS L-5 (W-45)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	6.184	28.004	4.276
		DS	5.067	27.894	1.078
	P/B	$\bar{x}$	0.286	0.756	0.322
		DS	0.203	0.975	0.080
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	105.828	209.376	65.116
		DS	53.799	56.090	24.028
	P/B	$\bar{x}$	4.440	6.695	3.457
		DS	2.593	3.184	1.145
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	303.444	536.644	269.892
		DS	100.925	43.389	10.988
	P/B	$\bar{x}$	10.993	14.865	9.943
		DS	3.996	6.002	2.313
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	33.512	20.592	5.184
		DS	27.140	35.892	8.385
	P/B	$\bar{x}$	1.092	1.169	0.141
		DS	1.077	1.297	0.221
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	1.192	0.704	-
		DS	1.228	1.408	-
	P/B	$\bar{x}$	0.049	0.037	-
		DS	0.047	0.053	-
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	21.908	31.084	12.712
		DS	2.749	8.510	12.519
	P/B	$\bar{x}$	1.020	1.234	0.666
		DS	0.216	0.345	0.598
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	71.480	5.632	443.624
		DS	45.348	3.092	108.532
	P/B	$\bar{x}$	3.805	2.061	26.923
		DS	2.825	2.635	6.943

**TABLA IX: RESULTADOS ESTADISTICOS L-6 (W-46)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.792	1.188
		DS	-	1.009	0.784
	P/B	$\bar{x}$	-	0.027	0.094
		DS	-	0.059	0.059
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	297.688	272.884	34.916
		DS	140.522	22.852	28.065
	P/B	$\bar{x}$	7.163	9.254	2.049
		DS	1.323	2.425	1.645
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	426.640	607.704	307.956
		DS	45.415	45.535	40.452
	P/B	$\bar{x}$	16.525	17.557	15.769
		DS	4.283	5.235	3.376
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	12.168	2.952	-
		DS	13.575	3.878	-
	P/B	$\bar{x}$	0.420	0.264	-
		DS	0.464	0.397	-
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	2.636	-	1.436
		DS	4.496	-	1.229
	P/B	$\bar{x}$	0.099	-	0.102
		DS	0.161	-	0.089
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	28.644	36.244	36.096
		DS	4.305	13.315	1.080
	P/B	$\bar{x}$	1.204	1.586	2.801
		DS	0.193	0.772	0.167
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	3.268	1.000	400.468
		DS	3.032	0.719	70.074
	P/B	$\bar{x}$	0.175	0.118	36.875
		DS	0.162	0.128	5.964

**TABLA IX.: RESULTADOS ESTADISTICOS L-7 (W-47)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	-	-
		DS	-	-	-
	P/B	$\bar{x}$	-	-	-
		DS	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	158.756	244.780	22.536
		DS	67.805	67.028	10.696
	P/B	$\bar{x}$	8.823	12.252	1.199
		DS	3.175	1.046	0.618
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	447.600	584.184	333.292
		DS	116.939	89.137	24.435
	P/B	$\bar{x}$	19.554	25.291	14.317
		DS	6.017	3.651	0.598
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.284	0.416
		DS	-	0.568	0.832
	P/B	$\bar{x}$	-	0.016	0.020
		DS	-	0.033	0.040
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.420	0.288
		DS	-	0.840	0.576
	P/B	$\bar{x}$	-	0.029	0.016
		DS	-	0.058	0.033
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	57.616	73.284	47.340
		DS	18.915	6.606	3.859
	P/B	$\bar{x}$	2.833	4.157	3.157
		DS	1.013	1.920	0.324
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	55.808	1.288	469.332
		DS	116.939	2.576	45.851
	P/B	$\bar{x}$	3.938	0.087	37.311
		DS	8.403	0.174	3.734



**TABLA IX<sub>6</sub>: RESULTADOS ESTADISTICOS L-8 (W-48)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	1.048	0.524	2.056
		DS	0.897	1.048	1.901
	P/B	$\bar{x}$	0.100	0.063	0.109
		DS	0.086	0.090	0.108
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	87.108	220.584	6.678
		DS	47.345	36.843	4.550
	P/B	$\bar{x}$	4.973	6.082	0.272
		DS	1.494	3.090	0.209
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	222.408	522.212	303.640
		DS	86.580	59.538	25.007
	P/B	$\bar{x}$	9.259	13.058	8.641
		DS	2.868	5.501	1.286
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	12.168	1.748	19.188
		DS	7.302	3.003	7.802
	P/B	$\bar{x}$	0.576	0.346	0.643
		DS	0.448	0.424	0.364
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	0.384	-	1.324
		DS	0.768	-	1.666
	P/B	$\bar{x}$	0.023	-	0.060
		DS	0.046	-	0.075
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	5.646	14.180	23.716
		DS	4.942	12.740	3.695
	P/B	$\bar{x}$	0.347	0.579	1.136
		DS	0.265	0.538	0.284
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	42.616	30.260	353.656
		DS	24.623	12.526	42.596
	P/B	$\bar{x}$	2.265	3.257	19.997
		DS	1.279	4.622	3.929

**TABLA IX.: RESULTADOS ESTADISTICOS L-9 (W-49)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	2.688	0.300	3.736
		DS	2.560	0.386	6.029
	P/B	$\bar{x}$	0.196	0.109	0.225
		DS	0.195	0.173	0.345
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	124.800	241.256	26.672
		DS	21.141	25.795	2.367
	P/B	$\bar{x}$	5.888	8.104	1.397
		DS	1.293	2.563	1.365
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	357.288	570.848	127.204
		DS	49.017	22.805	78.734
	P/B	$\bar{x}$	11.852	16.711	4.878
		DS	4.041	6.020	2.599
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	16.684	3.696	14.664
		DS	6.192	4.995	13.018
	P/B	$\bar{x}$	0.557	0.347	0.588
		DS	0.177	0.287	0.489
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	14.412	2.840	9.144
		DS	5.444	2.136	9.140
	P/B	$\bar{x}$	0.536	0.335	0.406
		DS	0.166	0.258	0.364
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	38.612	27.796	31.304
		DS	11.826	9.273	23.302
	P/B	$\bar{x}$	1.517	1.483	1.696
		DS	0.410	0.457	1.102
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	16.272	2.292	348.352
		DS	15.737	1.603	164.431
	P/B	$\bar{x}$	0.738	0.438	24.207
		DS	0.711	0.575	14.408

**TABLA IX<sub>10</sub>: RESULTADOS ESTADISTICOS L-10 (W-50)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	-	-
		DS	-	-	-
	P/B	$\bar{x}$	-	-	-
		DS	-	-	-
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	230.148	242.880	39.016
		DS	32.839	41.845	8.751
	P/B	$\bar{x}$	11.828	12.280	2.411
		DS	0.785	0.807	0.163
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	559.500	621.036	241.524
		DS	86.504	33.514	28.891
	P/B	$\bar{x}$	28.308	30.228	9.531
		DS	5.544	8.178	1.896
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	-	0.156	5.512
		DS	-	0.312	2.461
	P/B	$\bar{x}$	-	0.013	0.213
		DS	-	0.026	0.091
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	0.188	-	12.696
		DS	0.376	-	2.529
	P/B	$\bar{x}$	0.008	-	0.585
		DS	0.017	-	0.116
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	46.716	67.124	60.248
		DS	19.701	19.240	6.904
	P/B	$\bar{x}$	1.704	2.943	3.309
		DS	0.936	0.451	0.471
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	58.400	1.644	507.044
		DS	74.538	2.112	444.616
	P/B	$\bar{x}$	3.052	0.093	27.104
		DS	3.932	0.116	12.073

**TABLA IX<sub>11</sub>: RESULTADOS ESTADISTICOS L-11 (W-55)**  
**ELEMENTO IND. EST. M-1/GRAL. M-2a/POLIEDRO M-2b/GRANULO**

Na *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	2.160	1.664	4.056
		DS	3.062	1.124	3.619
	P/B	$\bar{x}$	0.119	0.106	0.251
		DS	0.168	0.133	0.220
Mg *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	85.404	348.528	39.276
		DS	30.700	39.636	33.698
	P/B	$\bar{x}$	3.024	8.382	1.331
		DS	1.070	5.790	1.278
P *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	254.688	668.664	241.608
		DS	41.653	41.077	108.346
	P/B	$\bar{x}$	7.753	16.1939	6.149
		DS	1.370	9.753	2.616
S *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	41.740	0.692	23.620
		DS	9.236	0.875	11.065
	P/B	$\bar{x}$	1.326	0.679	1.038
		DS	0.261	0.712	0.755
Cl *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	13.596	0.220	10.976
		DS	3.672	0.440	3.656
	P/B	$\bar{x}$	0.4618	0.238	0.541
		DS	0.113	0.251	0.360
K *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	43.888	5.992	44.252
		DS	10.267	5.928	8.526
	P/B	$\bar{x}$	1.661	0.992	2.059
		DS	0.197	0.763	0.525
Ca *k-alfa	CPS	$\bar{x}$	115.800	16.016	397.844
		DS	42.296	15.482	86.146
	P/B	$\bar{x}$	4.875	2.693	18.102
		DS	1.298	2.516	7.684

**TABLA X**  
**VALORES ESTADISTICOS CPS/MODALIDAD**

<i>Elem</i>	<i>Parámetro</i>	<i>M-1</i>	<i>M-2a</i>	<i>M-2b</i>
Na (CPS)	$\bar{x}$	2.397	3.331	1.807
	DS	2.538	7.853	1.471
Mg (CPS)	$\bar{x}$	151.515	257.408	30.802
	DS	79.410	36.395	14.063
P (CPS)	$\bar{x}$	387.450	601.791	200.014
	DS	135.806	51.549	98.572
S (CPS)	$\bar{x}$	13.611	3.347	6.681
	DS	14.743	5.666	7.952
Cl (CPS)	$\bar{x}$	4.723	0.774	4.260
	DS	6.990	1.076	4.373
K (CPS)	$\bar{x}$	33.429	32.678	28.464
	DS	13.794	19.393	16.028
Ca (CPS)	$\bar{x}$	39.554	6.548	480.497
	DS	32.268	8.041	99.834

**TABLA XI,  
PATRON MICROANALITICO GENERAL  
CORRECCION ZAF:M-1**

<i>ELEMENTO</i>	<i>K</i>	<i>Z</i>	<i>A</i>	<i>F</i>
Na	0.0023	0.966	0.591	1.005
Mg	0.1044	0.990	0.737	1.005
P	0.2436	0.950	0.899	1.002
S	0.0080	0.973	0.804	1.002
Cl	0.0030	0.931	0.864	1.004
K	0.0222	0.937	0.938	1.005
Ca	0.0300	0.958	0.952	1.000
<i>ELEMENTO</i>	<i>CPS</i>	<i>%WT</i>	<i>%</i>	
Na	2.397	0.40	0.53	
Mg	151.515	14.23	23.59	
P	387.40	28.47	65.25	
S	13.611	1.02	2.56	
Cl	4.723	0.37	0.45	
K	33.429	2.52	3.03	
Ca	39.554	3.28	4.60	
TOTAL			100.00	

**TABLA XI,**  
**PATRON MICROANALITICO POLIEDRO**  
**CORRECCION ZAF-M-2a**

<i>ELEMENTO</i>	<i>K</i>	<i>Z</i>	<i>A</i>	<i>F</i>
Na	0.0021	0.965	0.603	1.006
Mg	0.1206	0.969	0.748	1.005
P	0.2574	0.948	0.894	1.001
S	0.0013	0.971	C 793	1.001
Cl	0.0003	0.930	0.859	1.001
K	0.0152	0.936	0.936	1.001
Ca	0.034	0.957	0.952	1.000
<i>ELEMENTO</i>	<i>CPS</i>	<i>%WT</i>	<i>%</i>	
Na	3.331	0.37	0.49	
Mg	257.408	16.23	26.91	
P	601.791	30.33	69.50	
S	3.347	0.17	0.44	
Cl	0.774	0.04	0.05	
K	33.678	1.74	2.09	
Ca	6.548	0.37	0.52	
TOTAL			100.00	

**TABLA XI**  
**PATRON MICROANALITICO GRANULO**  
**CORRECCION ZAF: M-2B**

<i>ELEMENTO</i>	<i>K</i>	<i>Z</i>	<i>A</i>	<i>F</i>
Na	0.0018	0.975	0.503	1.002
Mg	0.0221	0.999	0.659	1.004
P	0.1311	0.963	0.912	1.012
S	0.0042	0.986	0.876	1.017
Cl	0.0028	0.943	0.920	1.031
K	0.0197	0.947	0.969	1.083
Ca	0.3795	0.969	0.976	1.000
<i>ELEMENTO</i>	<i>CPS</i>	<i>% WT</i>	<i>%</i>	
Na	1.807	0.36	0.49	
Mg	30.802	3.35	5.55	
P	200.014	14.76	33.83	
S	6.861	0.48	1.20	
Cl	4.260	0.31	0.38	
K	28.464	1.99	2.39	
Ca	480.497	40.14	56.16	
TOTAL			100.00	



**TABLA XII,**  
**VALORES ESTADISTITICOS INDICE P/B vs**  
**GRUPO EXPERIMENTAL**

ELEM P/B		C	I	II	III	IV	V
Na	$\bar{x}$	-	-	0.124	-	-	-
	DS	-	-	0.0005	-	0.004	0.160
Mg	$\bar{x}$	-	-	6.028	7.994	6.224	7.359
	DS	-	-	3.003	0.830	2.157	3.624
P	$\bar{x}$	-	-	11.717	18.339	13.556	18.976
	DS	-	-	3.964	1.515	4.901	7.292
S	$\bar{x}$	-	-	0.676	0.105	0.575	0.513
	DS	-	-	0.651	0.105	0.423	0.725
Cl	$\bar{x}$	-	-	0.231	0.050	0.024	0.390
	DS	-	-	0.231	0.050	0.020	0.421
K	$\bar{x}$	-	-	1.329	2.069	1.084	1.659
	DS	-	-	0.333	0.865	0.630	0.258
Ca	$\bar{x}$	-	-	2.731	2.056	2.515	1.408
	DS	-	-	2.146	1.881	0.967	0.962

**TABLA XII.**  
**HIPOTESIS DE CONTRASTE ELEMENTO vs P/B vs G.E.**

Na	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	<0.001	N.S.	N.S.
				III	<0.001	<0.001
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

Mg	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	N.S.	N.S.	N.S.
				III	N.S.	N.S.
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

P	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	< 0.05	N.S.	N.S.
				III	< 0.05	N.S.
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

**TABLA XII, (cont.)**

S	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	< 0.05	N.S.	N.S.
				III	N.S.	< 0.05
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

Cl	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	N.S.	N.S.	N.S.
				III	N.S.	N.S.
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

K	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	N.S.	N.S.	N.S.
				III	N.S.	N.S.
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

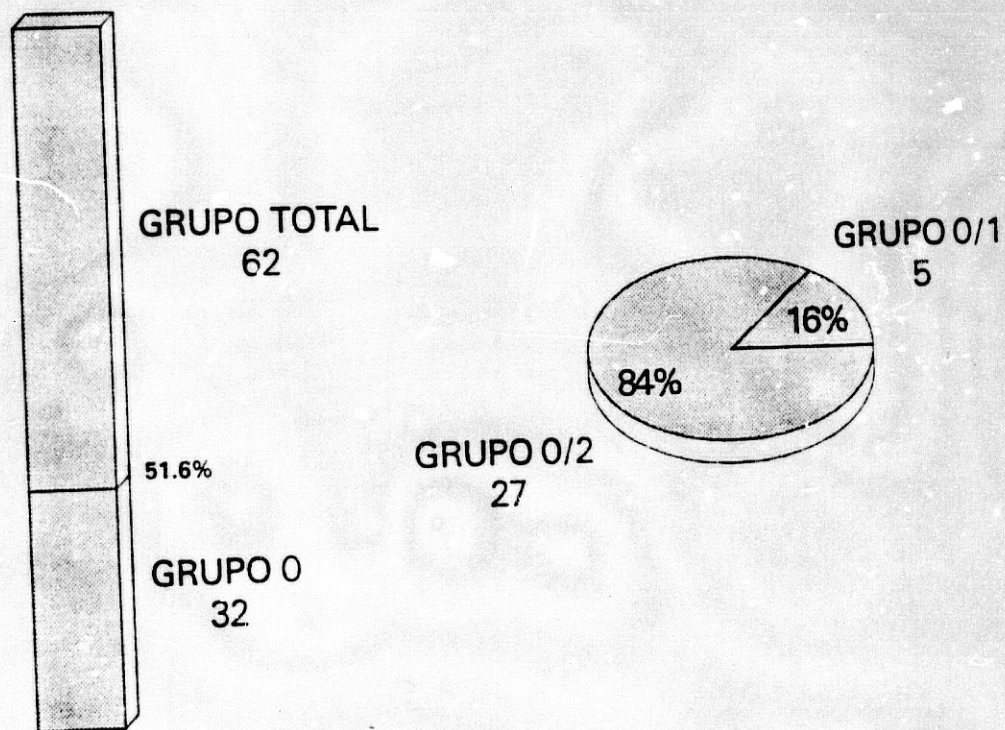
Ca	P/B	I	II	III	IV	V
	C	-	-	-	-	-
		I	-	-	-	-
			II	N.S.	N.S.	N.S.
				III	N.S.	N.S.
p = probabilidad estadística					IV	N.S.

**TABLA XIII****HIPOTESIS DE CONTRASTE POLIEDRO vs GRANULO  
(Correlación P/B elemento-morfología)**

P/B		M-2a	M-2b	p
Na	$\bar{x}$	0.144	0.137	N.S.
	DS	0.216	0.098	
Mg	$\bar{x}$	9.382	1.752	< 0.0001
	DS	2.416	0.759	
P	$\bar{x}$	19.609	8.336	< 0.001
	DS	5.616	4.184	
S	$\bar{x}$	0.352	0.270	N.S.
	DS	0.374	0.321	
Cl	$\bar{x}$	0.114	0.215	N.S.
	DS	0.182	0.204	
K	$\bar{x}$	1.747	1.742	N.S.
	DS	0.962	0.982	
Ca	$\bar{x}$	1.029	30.163	< 0.0001
	DS	1.064	7.313	

# GRAFICOS

# GRAFICA I. MORTALIDAD

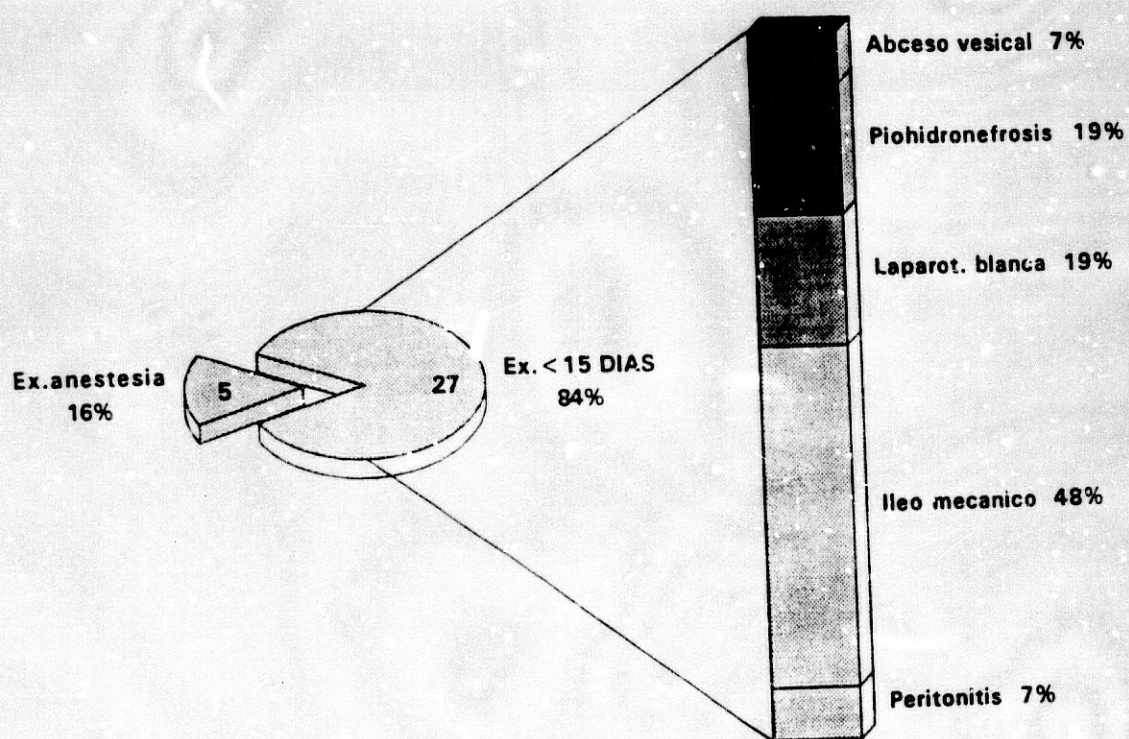


M. GLOBAL

M. PRECOZ

## GRAFICA II: MORTALIDAD PRECOZ

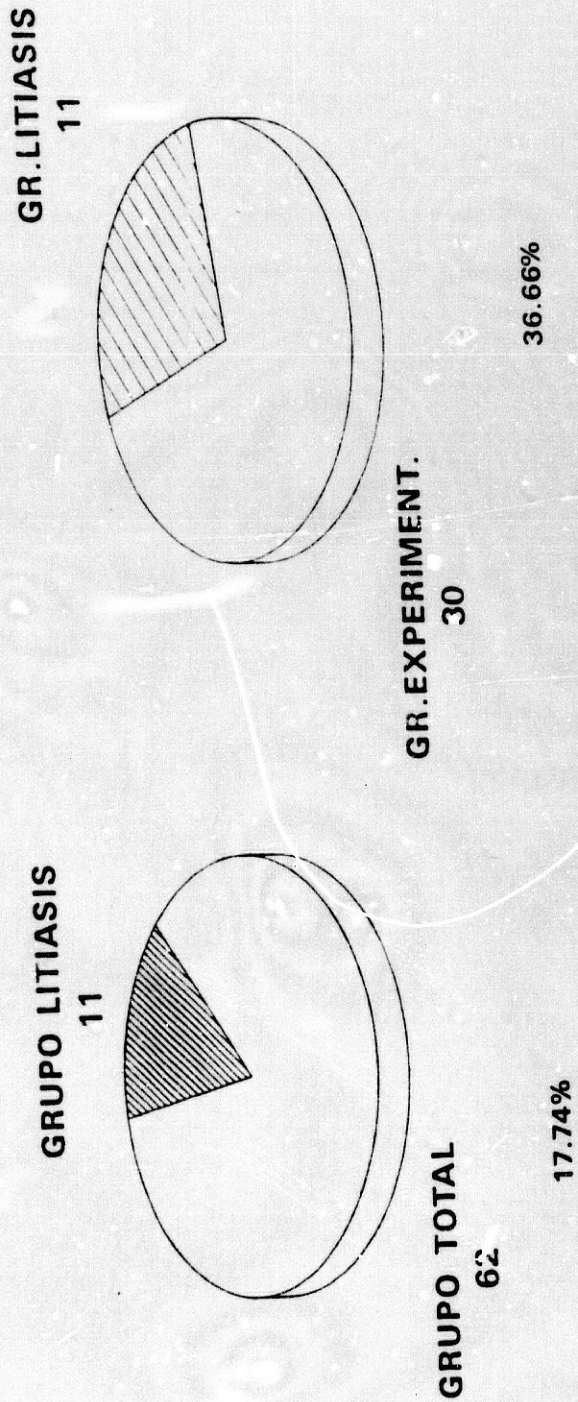
---



GRUPO 0

GRUPO 0/2

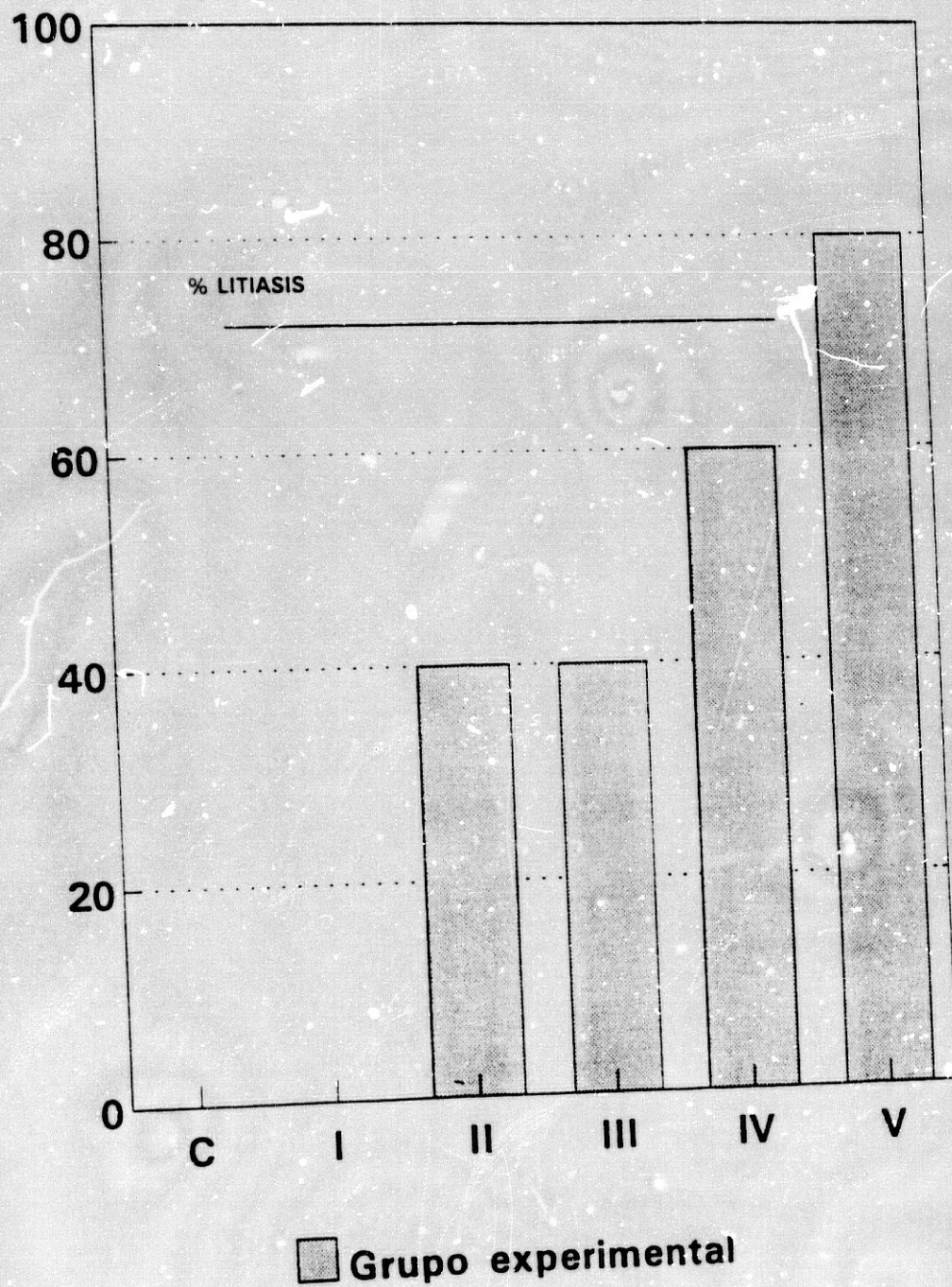
# GRAFICA III: INCIDENCIA LITIASIS



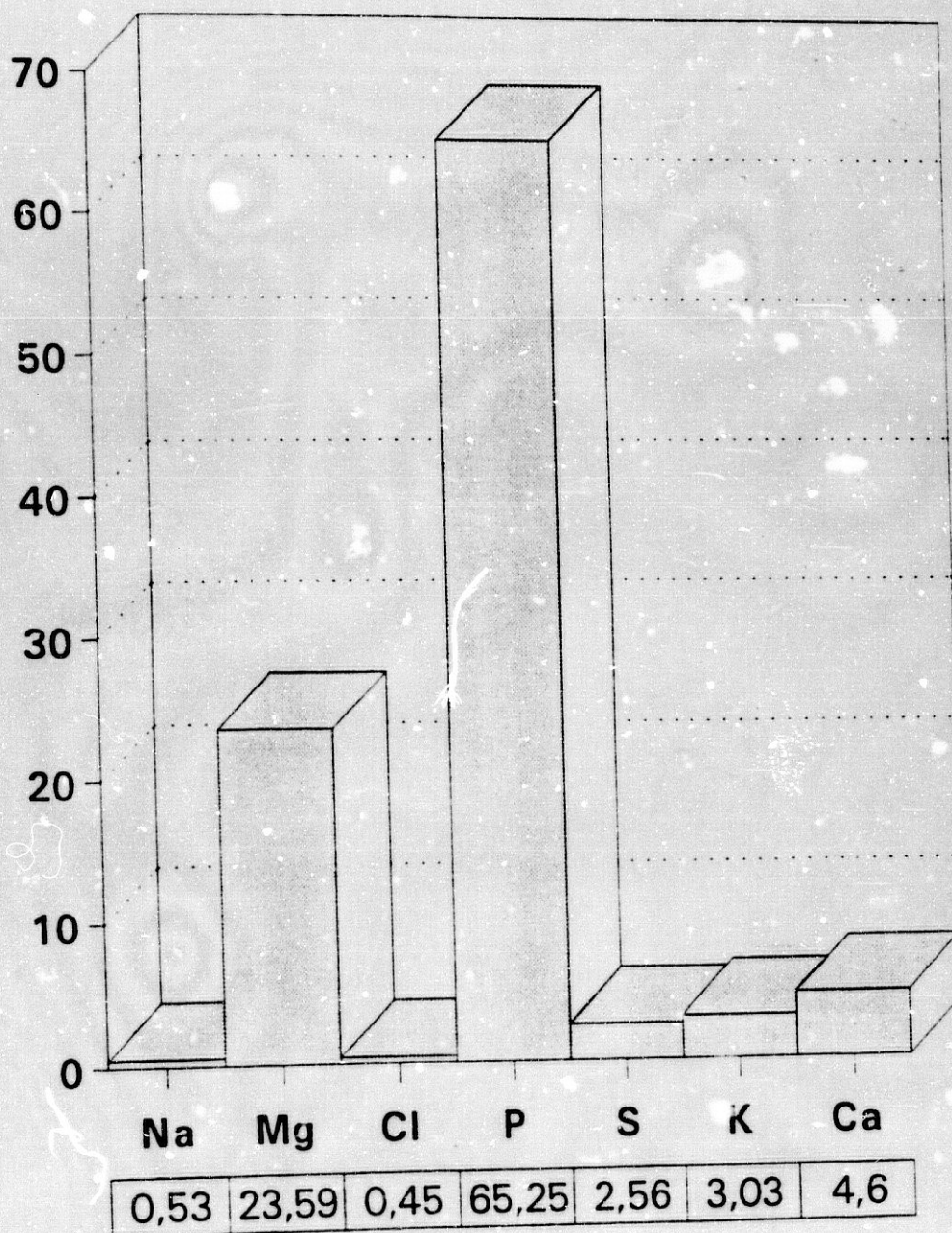
% vs grupos



# GRAFICA IV: INCIDENCIA LITIASIS



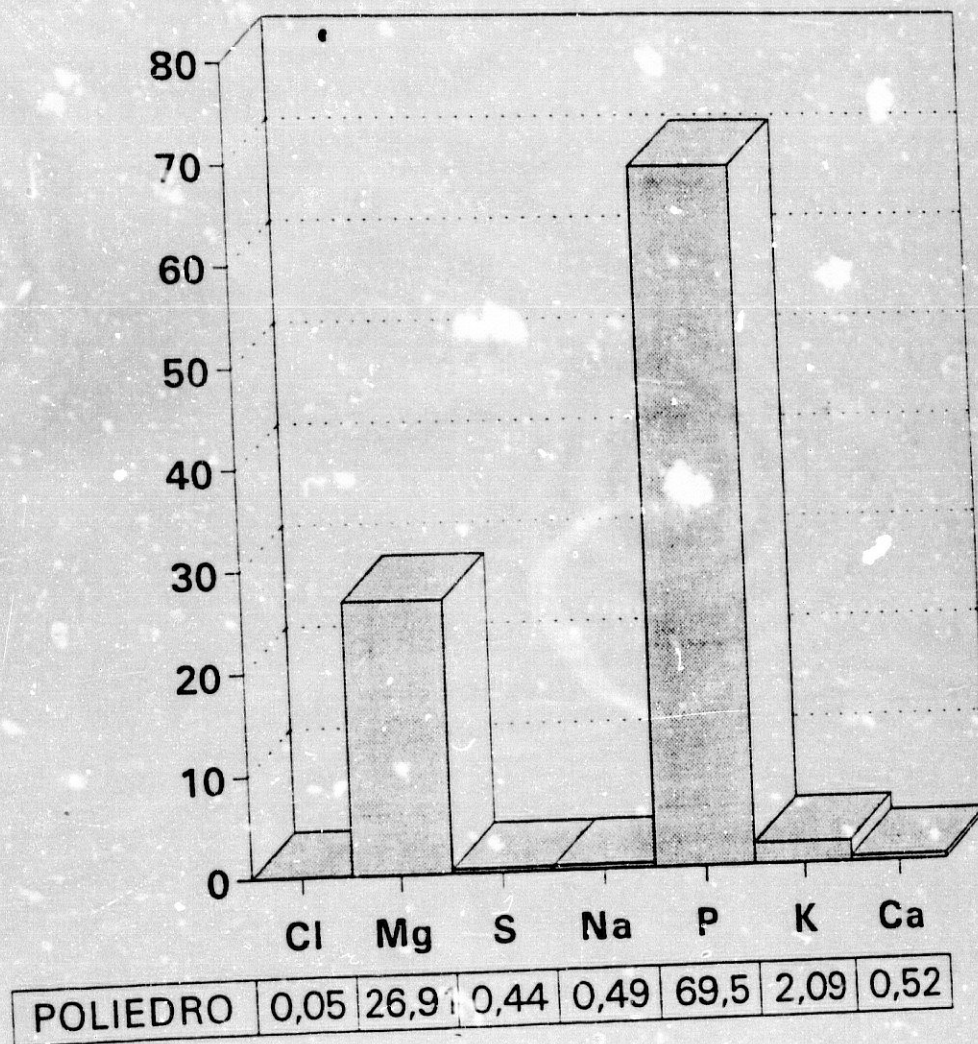
## GRAFICA V: PATRON MICROANALITICO GENERAL



M-1 (x300).Ca/P = 0.072.

# GRAFICA VI

## PATRON MICROANALITICO POLIEDRO

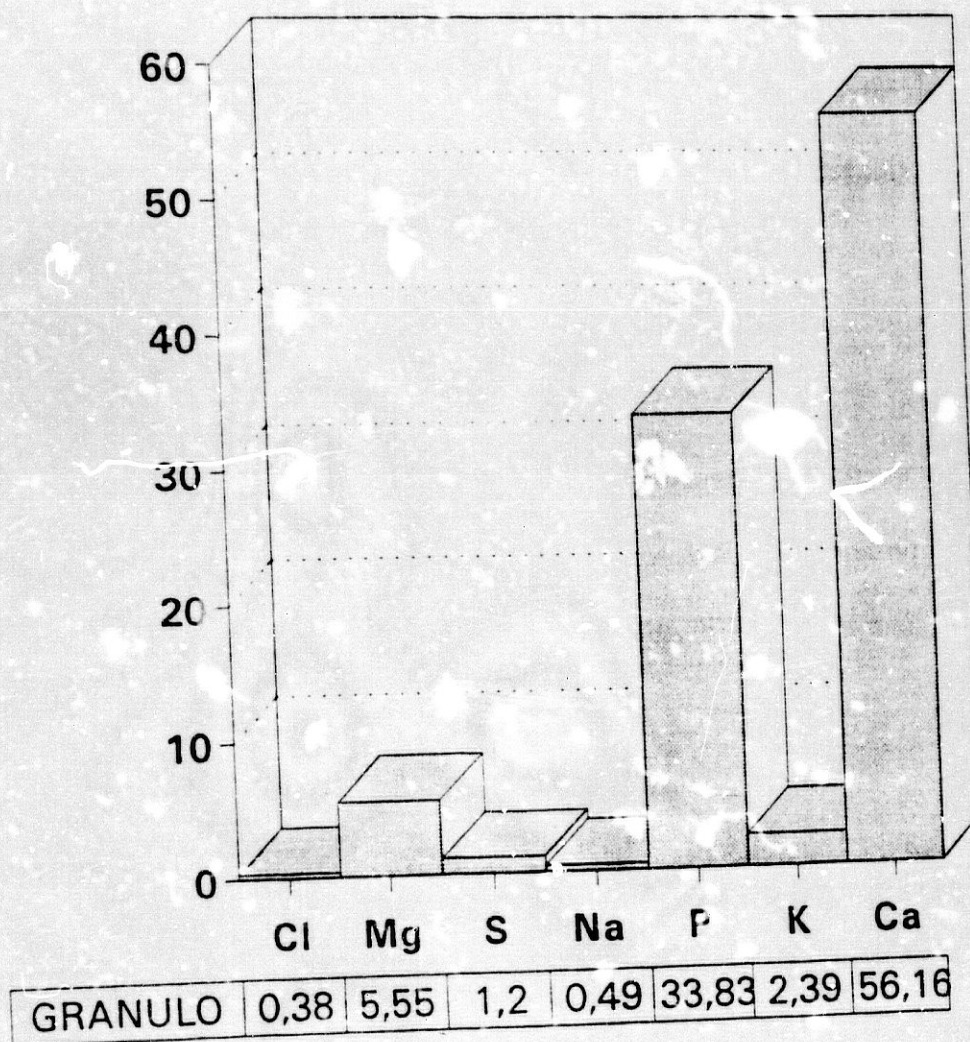


POLIEDRO

M-2a (x 10000).Ca/P = 0.007

# GRAFICA VII

## PATRON MICROANALITICO GRANULO

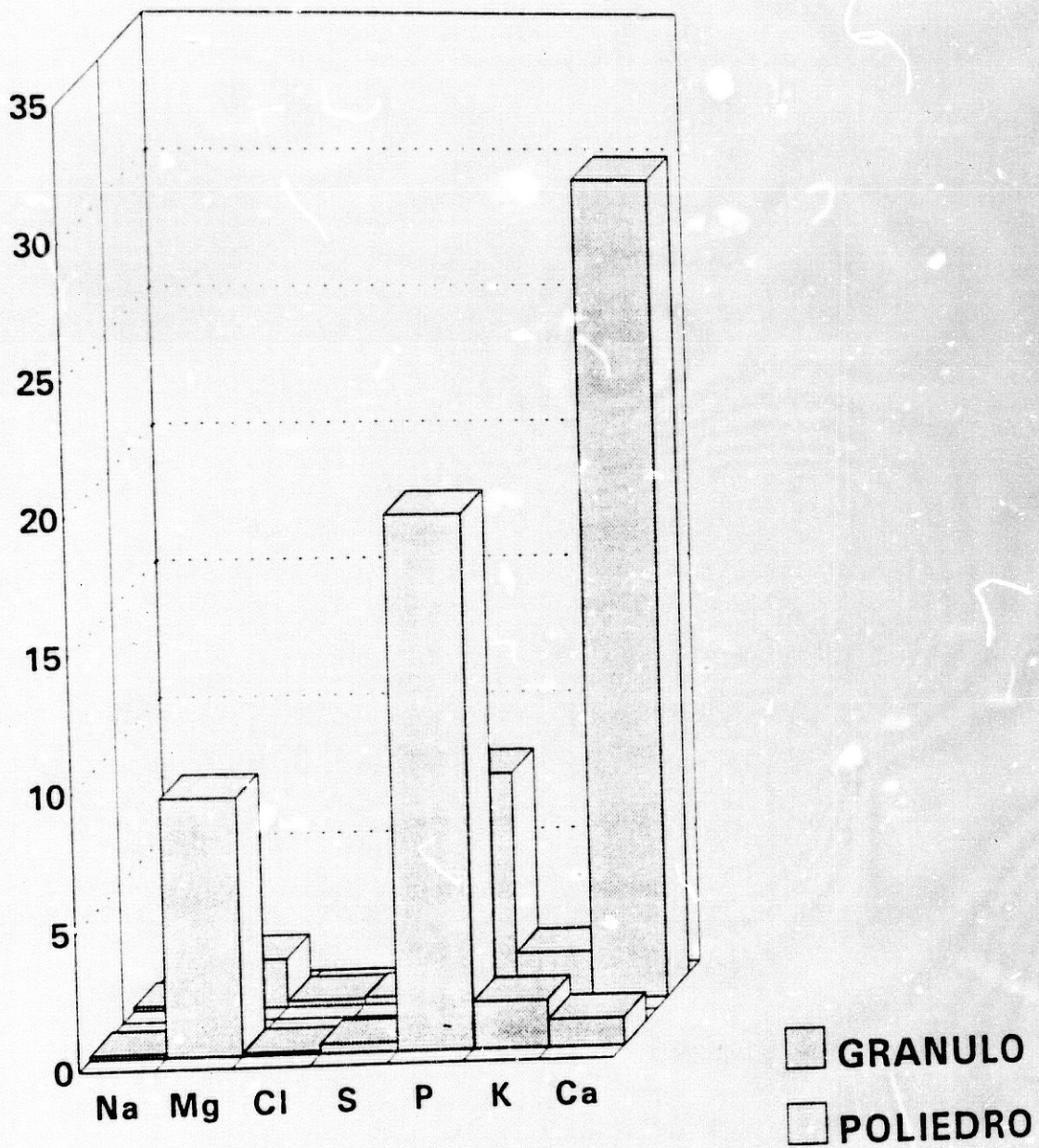


■ GRANULO

M-2b (x 10000).C./P = 1.66

# GRAFICA VIII

## CORRELACION ELEMENTO/MORFOLOGIA



POLIEDRO vs GRANULO (Indice P/B)

## DISCUSSION

La "Discusión" de los contenidos de la presente Tesis Doctoral la estableceremos, contrastando la experiencia aportada y los resultados obtenidos con los antecedentes bibliográficos previamente considerados.

Así pues, desarrollaremos ésta en base a los siguientes puntos:

1º) Consideraciones sobre la metodología quirúrgica seguida y los resultados obtenidos con la misma.

2º) Consideraciones acerca del método de observación microscópica seguido en el desarrollo de nuestro modelo experimental, así como de los resultados obtenidos con su uso.

3º) Consideraciones sobre la técnica microanalítica y sus resultados.

Con respecto al primer punto, hemos de resaltar que el establecimiento mediante microcirugía de una derivación urinaria interna en ratas Wistar o en otras especies, como réplica experimental de la técnica que se aplica a seres humanos, ya ha sido llevada a cabo por diferentes autores (Richie, Skinner y colbs. 1974, Núñez, Sanjuán y colbs. 1987, Daher, Abourachid y colbs. 1989, Koch, McDougal y colbs. 1991). La idea de desarrollar tales modelos de laboratorio para la investigación biomédica surge precisamente de la importancia cuantitativa y cualitativa de las complicaciones

observadas en los pacientes sometidos, por una u otra indicación, a este tipo de técnica quirúrgica (Kelalis 1974, Zincke y Segura 1975, Corbett y Lloyd-Davies 1976, Heidler, Marberger y colbs. 1979, McConnell, Murisoi. y colbs. 1979, Silverman, Woodhouse y colbs. 1986, Nurse y Mundy 1989, Filmer y Spencer 1990,).

No obstante, la utilización de un modelo de derivación urinaria transigmoidea con la finalidad de establecer un modelo de litogénesis experimental, susceptible de ser estudiado complementariamente por técnicas de observación ultraestructural y microanálisis elemental, es la primera vez que se lleva a cabo.

Así pues, Núñez y Ramos estudian a nivel experimental el patrón metabólico inducido por la práctica en animales de experimentación de esta técnica quirúrgica, así como de la subsecuente desderivación, comprobando la reversibilidad del mismo (Núñez, Blesa y colbs. 1987, Ramos, Núñez y colbs. 1989).

En esta misma línea, las observaciones de Kock, se orientan al esclarecimiento etiopatogénico de la acidosis metabólica de los pacientes derivados, desarrollando un modelo experimental propio en orden a dilucidar si ésta es consecuencia de la actividad de gérmenes productores de ureasa o a la reabsorción en tubo digestivo de derivados amoniacales propios de la orina (Koch, McDougal y colbs. 1991). Anteriormente, y también en el sentido de aumentar la comprensión de los fenómenos patológicos infecciosos observados en los pacientes derivados, Richie había efectuado un estudio experimental, evidenciando que las pielonefritis observadas eran secundarias al reflujo y paso de contenido bacteriano intestinal a tramo urinario a través de la anastomosis



vesicocólica (Richie, Skinner y colbs. 1974).

En lo que se refiere al potencial tumorigénico de este tipo de cirugía, el fenómeno, además de haberse constatado en la literatura médica por innumerables aportaciones (Hammer 1929, Eraklis y Folkman 1978, Zander y Segura 1983, Castiñeiras, López y colbs. 1988, Nurse y Mundy 1989, Filmer y Spencer 1990), ha sido igualmente evidenciado en modelos animales (Daher, Abourachid y colbs. 1989).

En otro sentido, la potencialidad litogénica de la intervención, constatada a nivel de experiencia clínica en humanos en un 10% de los pacientes derivados (Dretler 1973, Zincke y Segura 1975, Hendren 1983), apenas ha sido desarrollada a nivel experimental, si se exceptúa la aportación de Núñez quien obtiene en sus animales de laboratorio sometidos a vesicosigmoidostomía terminolateral con ligadura de uretra gran cantidad de microcálculos renales y sólo un 10% de litiasis vesicales a los 5 meses de la intervención (Núñez, Sanjuán y colbs. 1987).

Establecidos estos antecedentes, resulta obligado efectuar a continuación un análisis de los resultados obtenidos en el desarrollo de nuestra experiencia.

En primer lugar, en lo que se refiere al parámetro "Mortalidad", como se refleja en la Gráfica I, ésta alcanza al 52% de los animales intervenidos ( $n = 32/62$ ), entendiéndose como tal la mortalidad observada en la inducción anestésica sumada a la obtenida en los primeros quince días postoperatorios, ya que de hecho, a los 6 meses de la intervención, la mortalidad en nuestra experiencia alcanzó a la totalidad del grupo

experimental. Este alto índice pone de manifiesto a nuestro juicio la importante patogenicidad de este tipo de técnica quirúrgica, ya observada tras su aplicación en seres humanos, y causa de su progresivo abandono en las décadas recientes a favor de otras alternativas terapéuticas frente a las indicaciones reseñadas para la misma (Barret y Furlow 1983, Webster y Sihelnik 1984, Garat, Aragona y cols. 1985).

Si el parámetro "Mortalidad" se parcela por causas de muerte, como se refleja en la Gráfica II, encontramos un bajo índice de exitus secundarios a la administración de anestésico (grupo 0/1: n=5), lo que viene en parte a ratificar la utilidad de la técnica anestésica utilizada en cirugía abdominal sobre ratas Wistar (inducción por el método de la campana y mantenimiento por mascarilla con éter al 10%). Por el contrario, la "Mortalidad precoz" secundaria a otras causas (grupo 0/2), analizada según los datos hallados en las necropsias, alcanzó a 27 animales. En este grupo, llama la atención la existencia de obstrucción intestinal o íleo mecánico como dato necrótico más frecuentemente hallado (n=13), fenómeno que podría explicarse por la especial configuración en bolos de la materia fecal de las ratas, hecho constatado en la literatura al respecto (Castejón, Fraile y cols. 1979, Hebel y Stromberg 1976), que encontraría dificultad a su paso por la anastomosis vesicocólica creada artificialmente. Otros datos necróticos menos frecuentes de "Mortalidad precoz" fueron fenómenos de piohidronefrosis, peritonitis y abscesos vesicocólicos. A este respecto, también llama la atención la presencia de 5 casos de "laparotomías blancas" en las que la necropsia no aportó dato alguno esclarecedor de la muerte del animal, pudiendo postularse que estos exitus tal vez fueran debidos a causas sépticas o metabólicas de difícil objetivación.

En orden a establecer la relación de los parámetros "Peso" y "Mortalidad", se ha efectuado el análisis estadístico reflejado en la tabla VIII<sub>1</sub>, en la que destacan la diferencia significativa anotada entre el peso medio del grupo experimental (179.933 +/- 47.387) y del grupo 0/2 de animales que sufrieron "Mortalidad precoz" (127.704 +/- 29.813), frente a la escasa a nula diferencia estadística de las otras hipótesis de contraste. En virtud de este resultado, pudiera inferirse una relación directa entre "Mortalidad precoz" y menor peso del animal de experimentación.

En relación con la morbilidad postoperatoria, descrita en el apartado correspondiente del capítulo "Resultados" de nuestra Tesis Doctoral, hemos de resaltar dos fenómenos:

1. Aparición de un cuadro caracterizado por disminución de masa corporal, astenia, anorexia, caída parcial de pelo, apatía y pérdida de la bulimia habitual. Este cuadro presentó una duración media de 1-2 semanas y es atribuible, a nuestro juicio, a los fenómenos infectivos y metabólicos secundarios al establecimiento del modelo quirúrgico. En este sentido, la aparición de infecciones urinarias y de complicaciones metabólicas han sido puestas de manifiesto en numerosas ocasiones, tanto a nivel clínico (Shapiro, Lebowitz y colbs. 1975, Baker, Kupke y colbs. 1976, Heidler, Marberger y colbs. 1979) como experimental (Kass 1963, Ramos, Núñez y colbs. 1989). De hecho, en el 26% de los animales del grupo 0/2, según refleja la Gráfica II, pudieron objetivarse, al realizar las correspondientes necropsias, fenómenos infectivos en forma de abscesos vesicocólicos (7%) o piodidronefrosis (19%).

2. Aparición de deposiciones líquidas y úlceras perianales, explicándose las primeras por la emisión conjunta de heces y orina por ano, como consecuencia de la ligadura de uretra y paso de orina a colon a través de la anastomosis. De forma secundaria a ello, la aparición de úlceras perianales se explicarían por el efecto irritante de los derivados ureicos y los componentes infecciosos de la orina sobre la región perianal e inicio del rabo.

A pesar de la morbi-mortalidad referida anteriormente, la utilidad del modelo quirúrgico como técnica inductora del modelo litogénico ha de valorarse en función de la incidencia de dicho fenómeno en la experiencia realizada. En este sentido, la Gráfica III pone de manifiesto la detección de estructuras litiásicas en el 17.74% de todos los animales operados ( $n=11/62$ ), porcentaje que se eleva al 36.66% si se contrasta el dato frente al grupo experimental exclusivamente ( $n=11/30$ ). Este porcentaje revela una alta incidencia del fenómeno litogénico, máxime si se compara con otros modelos quirúrgicos inductores de litiasis. En este sentido, la experiencia de Shimamura que estudia el papel de los "cuerpos extraños" introduciendo un punto de sutura de seda en la vejiga de ratas de laboratorio apenas consigue desarrollar litiasis en un 10% de las mismas (Shimamura 1987-1/87-2). Desarrollando un modelo similar al nuestro de vesicosigmoidostomía terminolateral con ligadura de uretra, Núñez apenas obtiene un 10% de litiasis vesicales a los 5 meses de la intervención, aunque este mismo autor llega a desarrollar estructuras litiásicas en el 40% de ratas sometidas a técnicas de enterocistoplastia, porcentaje más similar al obtenido por nosotros (Núñez, Sanjuan y cols. 1987). De obligada cita es la experiencia de Takahashi, quien desarrolla un modelo de urolitiasis experimental en ratas "Brattleboro", estudiando por separado y

simultáneamente la capacidad litogénica de cuerpos extraños, osmolaridad urinaria e infección vesical, induciendo en sus animales una diabetes insípida por administración de pitresina, ubicando un punto de seda en vejiga e inyectando proteus mirabilis en vejiga. Este autor sólo obtiene un porcentaje significativo de urolitiasis (75%) con la presencia de los tres factores promotores mencionados, concluyendo en la necesidad de la triple concurrencia de los mismos para la inducción del fenómeno y la escasa incidencia de litiasis en los animales sometidos a sólo uno o dos de estos factores (Takashasi, Okada y colbs. 1988). De hecho, éste es el único autor encontrado en la bibliografía consultada con una incidencia litiásica superior en su experimento a la aportada por nosotros, además del ya mencionado referido a las técnicas de enterocistoplastia desarrolladas en el modelo experimental de Núñez (Núñez, Sanjuán y colbs. 1987).

También se han desarrollado a este respecto modelos exentos de manipulación quirúrgica, como los aportados por Khan (Khan, Finlayson y colbs. 1983), Vermeulen (Vermeulen, Lyon y colbs. 1964, Vermeulen, Ellis y colbs. 1966) y Rottschaefter (Rottschaefter, Sax y colbs. 1970), mediante manipulación farmacológica (administración de hormona antidiurética) o microbiológica (administración intravesical de microorganismos), con resultados de incidencia inferiores siempre al 15%.

Otro dato a mencionar en el desarrollo de nuestra experiencia, en lo que se refiere a la incidencia de litiasis, lo constituye lo expresado en la Gráfica IV, en la que se observa una mayor aparición de fenómenos litogénicos de forma paralela a una

mayor latencia postquirúrgica. Como se refleja en dicha gráfica, los grupos C y I no presentan la aparición del fenómeno litogénico, mientras que en los grupos II y III éste se presentó con una incidencia del 40% ( $n=2/5$ ), y en los grupos IV y V con un 60% ( $n=3/5$ ) y 80% ( $n=4/5$ ), respectivamente.

En este mismo sentido, se aprecia una influencia del parámetro "Peso" en la capacidad de supervivencia postoperatoria de los animales, y en consecuencia, en la probabilidad de presentar litogenicidad. Esto queda reflejado en la tabla VIII<sub>2</sub>, en la que destaca la diferencia significativa del peso de los grupos IV y V, con medias superiores a los 200 gramos con respecto al resto de los grupos experimentales, observándose al mismo tiempo un cierto valor en ascenso de todos los pesos medios desde el grupo C (158.00 +/- 17.621) al grupo V (200.40 +/- 26.021), pudiendo postularse por tanto, que el mayor peso en el momento quirúrgico se sigue de mayor supervivencia postoperatoria y mayor índice de litogenicidad.

Una vez analizada la metodología quirúrgica y los resultados obtenidos con la misma, pasamos a desarrollar el segundo apartado de nuestra "Discusión", orientado a establecer las consideraciones derivadas de la metodología y resultados de los estudios morfológicos llevados a cabo mediante microscopía electrónica de barrido.

A este respecto, la identificación y descripción de patrones morfológicos mediante el uso del microscopio electrónico de barrido, aplicado al fenómeno concreto de las litiasis, data de pocos años a esta parte (Carr 1968, Somacarrera y Alonso 1972, Boyce

1972), encontrándose en la literatura al respecto descripciones frecuentes de estructuras líticas obtenidas de cirugía aplicada a seres humanos (Baker, Kupke y colbs. 1985, Khan y Hackett 1987, Navarro, Campos y colbs. 1990), o bien procedentes de animales de experimentación no quirúrgica (Fukuda, Tanaka y colbs. 1984), o bien de cristales estequiométricamente puros obtenidos por síntesis química en laboratorios (Cifuentes 1984). En este sentido, podemos afirmar que el uso de esta técnica, aplicada a un modelo quirúrgico de litogénesis experimental, tal y como desarrollamos en la presente Tesis Doctoral, no consta hasta la fecha en la literatura científica.

La elección del microscopio electrónico de barrido para el estudio de las litiasis detectadas en nuestro modelo experimental se ha hecho precisamente, en base a la consideración de que éste constituye una tecnología actualmente en desarrollo en lo referente al estudio de las litiasis (Dosch y Koestel 1975, Berg, Hesse y colbs. 1982, Crawford 1984), siendo pues importante, a nuestro juicio, determinar su capacidad y utilidad a este respecto.

De hecho, el microscopio electrónico de barrido se ha convertido en los últimos años en una valiosa herramienta de trabajo para una amplia variedad de aplicaciones científicas. La razón básica de ello reside en su característica de poder visualizar la superficie de las muestras a gran aumento (Terzakis 1985, Rodger 1985).

En lo que se refiere a la preparación de los especímenes a observar, en este caso las 11 estructuras litiásicas obtenidas a partir del modelo quirúrgico utilizado, dicha preparación se realizó en base a lo manifestado por diversos autores que sugieren la

lógica necesidad de efectuar un estudio, no sólo de la superficie litiásica, sino también de la topografía que ésta muestra al corte, ya que las superficies de fractura constituyen un criterio adicional fundamental en orden a reconocer el núcleo y las áreas intermedias de la estructura en estudio. Así pues, siguiendo las pautas recomendadas por diversos autores (Kim 1982, Leusmann 1983, Leusmann, Meyer-Jurgens y colbs. 1984, Rodger 1985), las litiasis objeto de nuestro estudio eran observadas con lupa y cuidadosamente fracturadas en orden a obtener una sección limpia, montadas en portas de aluminio y recubiertas con oro, como ya hemos expuesto en el capítulo correspondiente de "Material y Métodos". El montaje de las piezas en portas se realizó bien con la superficie de fractura orientada hacia arriba para efectuar la observación morfológica de la sección, bien con la estructura de superficie propia de la pieza hacia arriba, en orden a efectuar el análisis morfológico de la misma.

El recubrimiento de nuestras muestras se efectuó con oro, en orden a evitar efectos de carga y distorsiones fotográficas, como afirma Leusmann que sucede con otros materiales de recubrimiento (Leusmann, Meyer-Jurgens y colbs. 1984).

Por otra parte, en los resultados obtenidos a este respecto en nuestra línea de estudio, la descripción morfológica revela un patrón general de tendencia al crecimiento centrífugo a partir de un núcleo central, y por ende, de configuración final esférica u ovoidea estructurada en un centro amorfo sobre el que asientan sucesivas capas de sustancias cristalinas, determinando la aposición concéntrica de las mismas el grosor final de la pieza (Figuras 6A, 6B). Esta configuración en un patrón compacto que se pierde en la superficie de la masa lítica crecería moldeando la cavidad de residencia (en este

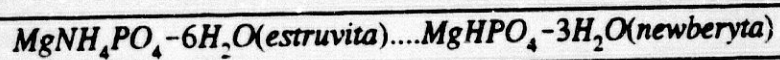


caso, la vejiga, y eventualmente, uréteres) con tendencia a rellenar la misma, presentando pues, en algunas ocasiones, ramificaciones, dando lugar a la variedad denominada "cálculo coraliforme" (Figura 2) (Prawermann 1974, Thomas, Rodriguez y colbs. 1978, Gaussin, Olivieux y colbs. 1979/80, Zuluaga, Torres y colbs. 1986).

Como hemos indicado anteriormente, en los resultados morfológicos, nuestro estudio con MEB ha revelado la existencia de dos patrones básicos: el patrón poliédrico y el patrón granular. Con respecto al primero, según refiere la literatura al respecto, se vería básicamente formado por un material denominado *ESTRUVITA* o *GUANITA*, o lo que es lo mismo, FOSFATO AMÓNICO-MAGNÉSICO HEXAHIDRATADO  $[MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O]$ .

Esta sustancia química se encuentra como componente básico de los cálculos de origen infeccioso comúnmente descritos entre los investigadores del tema (Elliot, Sharp y colbs. 1959, Guillen Caveró 1970-1/70-2, Meyer, Finlayson y colbs. 1971, Aboulker, Bernard y colbs. 1971, Alonso y Somacarrera 1972, Stamey 1972, Alonso y Somacarrera 1973, Sutor 1975, Dosch 1975, Griffith, Musher y colbs. 1976, Alonso y Somacarrera 1976, Griffith 1978, Blomen 1981, Kim 1982, Leussmann 1983, Leussmann, Meyer-Jurgens y colbs. 1984, Rodriguez Rebollo, Torres y colbs. 1987, Navarro, Campos y colbs. 1990). En este mismo sentido, también viene a ratificarse la naturaleza postinfecciosa de los cálculos derivados de nuestro modelo quirúrgico, con fosfato amónico-magnésico como componente básico de los mismos, en base al aspecto gris-blanquecino típico observado al corte macroscópicamente, descrito por diversos autores (Bastian y Gebhardt 1975, Asper y Schmuki 1979, Cifuentes 1984).

Por otro lado, el patrón relativamente compacto de áreas intermedias con disposición frecuente en mosaico detectado en nuestro estudio, sería compatible con lo que algunos investigadores del tema identifican con el nombre mineralógico de *NEWBERYTA*, sustancia que aparece por descomposición de la estruvita y que se va formando de manera espontánea en el interior del cálculo. De hecho, la newberyta aparece sólo en cálculos extraídos y conservados en contacto con el aire (Sutor 1968, Rodríguez-Miñón y Santos 1981, Rodríguez-Miñón Santos y cols. 1981), como ocurrió con los descritos en esta Tesis. Este componente detectado en las litiasis fue descrito por primera vez en un cálculo del aparato urinario en 1964 por Parsons (Parsons 1964), tratándose desde un punto de vista químico de un fosfato amónico-magnésico distinto del habitual (estruvita). Su formación parece deberse al lento desprendimiento de amoniaco, mediante el proceso químico siguiente:



Este componente se detecta asimismo en los depósitos de guano como consecuencia de la descomposición de la estruvita (Guillén Cavero 1972/73).

La hipótesis de la litogenicidad postinfecciosa a partir de la aposición de sustancias que se hallan en suspensión en la crina, sobre una matriz orgánica (bacteriológica o celular), se halla hoy fuera de toda duda, destacando de entre todas las hipótesis descritas en la literatura por su frecuencia y aceptación entre los diversos investigadores, el papel relevante de los gérmenes del género *proteus*, que actuarían

fracturando la molécula de urea mediante el uso de la ureasa contenida en su estructura bacteriana, alterando así el pH urinario y la solubilidad del fosfato y del magnesio, promoviendo su precipitación en capas sucesivas (Chute y Suby 1943, Braude y Siemenski 1960, Kass 1963, Griffith, Musher y cols. 1973, Griffith, Musher y cols. 1976, Griffith 1978, Robertson 1986). Algunos autores afirman a este respecto que los cálculos vesicales inducidos en ratas tras infección ureolítica por *Proteus* se originaría inicialmente en depósitos de fosfato amónico magnésico amorfo sobre el que posteriormente se depositarían otras sustancias (Rotschaeffer, Sax y cols. 1970).

El fenómeno infeccioso inducido por la práctica de la derivación urinaria transigmoidea, evidenciado tanto a nivel clínico como experimental, se explicaría por el doble mecanismo de paso de contenido bacteriano fecal al tramo urinario a través de la anastomosis vesicocólica (Koch, McDougal y cols. 1991, Silverman, Woodhouse y cols. 1986) y por la alteración del flujo urinario normal secundario a la creación de áreas anómalas de drenaje y residuo urinarios que actuarían como promotores infecciosos (Fleisch 1974/78).

Así pues, el patrón morfológico general estructurado en un núcleo irregular con la sucesiva aposición de capas concéntricas y tendencia esferoidea coraliforme en la configuración final de la masa lítica, tal y como se observa en las litiasis obtenidas en nuestro estudio, correspondería básicamente con el patrón general de "cálculo postinfeccioso" descrito en la literatura científica, en contraposición con el cálculo de origen metabólico, estequiométricamente puro y morfológicamente uniforme en toda su estructura (Alonso y Somacarrera 1972, Boyce 1972-1/72-2, Alonso y Somacarrera

1973, Dosch y Koestel 1975-1/75-2, Alonso y Somacarrera 1976, Cifuentes, Bellanato y colbs. 1978, Kennoki, Mizuhira y colbs. 1978, Bastian y Gebhardt 1979, Hesse, Lange y colbs. 1979, Dosch 1980, Hesse, Hicking y colbs. 1980, Dosch y Eisen 1980, Faure, Netter y colbs. 1980, Hesse, Hicking y colbs. 1981, García de la Peña y Cifuentes 1981, Kim 1982, Leusmann 1983, Cifuentes 1984, Crawford 1984, Kim, Resau y colbs. 1984, Leusmann, Meyer-Jurgens y colbs. 1984).

Siguiendo en la línea descriptiva del patrón morfológico detectado en las litiasis obtenidas según nuestro modelo quirúrgico, afirmábamos anteriormente que en la superficie de las mismas se perdía la compacticidad del cálculo, apreciándose en su topografía estructuras poliédricas numerosísimas irradiando hacia el exterior, con frecuentes imágenes en "ataúd", ángulos diedros habitualmente romos y ocasionalmente formas cúbicas. Este patrón poliédrico detectado en la superficie viene a complementar lo ya descrito para las imágenes correspondientes al núcleo y corte de las litiasis, en el sentido de que, siguiendo a los investigadores del tema, tal patrón se correspondería con fosfato amónico magnésico hexahidratado (estruvita) en una forma cristalográficamente más perfecta que la hallada en el núcleo (fosfato amónico-magnésico amorfo) o en el corte (newberyta). En este sentido, la forma en "ataúd" ha sido descrita frecuentemente en los sedimentos de orina con fermentación amoniacal secundaria a infección ureolítica (Werness, Bergert y colbs. 1981), así como en los cálculos postinfecciosos, siendo habitual que no conserven regular su superficie y que sus ángulos diedros se vuelvan romos, tal y como se observa en nuestras litiasis (Somacarrera y Alonso 1972, Spector y Jameson 1976, Spector, Garden y colbs. 1978, Hesse, Berg y colbs. 1979, Hesse, Hicking y colbs. 1980, Khan y Hackett 1986).

Siguiendo a los autores más sobresalientes en el tema, puede afirmarse que un cálculo de infección ureolítica es un laboratorio químico en plena labor, habiéndose descrito un número considerable de sustancias químicas próximas a la estructura de estruvita, tales como hannayita, fosfato magnésico cálcico, bioberrita y newberyta (Cifuentes 1984). Algunos cálculos vesicales producidos experimentalmente en ratas tras infección ureolítica por *Proteus Mirabilis* se originan, como hemos referido con anterioridad, en depósitos amorfos de fosfato amónico magnésico, debiendo pasar, según refieren los autores de dicho modelo experimental, al menos 6 semanas para que a partir de su fase amorfa, éste fosfato amónico magnésico cristalice adoptando la típica morfología estruvítica (Rotschaeffer, Sax y cols. 1970). Estos datos ratifican la hipótesis de una conformación básica de nuestras litiasis en fosfato amónico magnésico, en varias de sus presentaciones químicas cuantitativas, con formas cristalinas más puras conforme se progresa en el análisis morfológico desde el núcleo a la periferia.

Pero, como describíamos en el análisis morfológico de nuestras litiasis en el apartado "Resultados", no sólo se han detectado estructuras poliédricas en su topografía superficial, pues paralelamente, aunque con menor importancia cuantitativa, hemos detectado un segundo patrón microscópico de tipo microesferolítico o granular, con aspecto variable desde granuloma vegetante a configuraciones redondeadas con numerosas espículas irradiando al exterior, frecuentemente ubicadas en las grietas y oquedades detectadas entre las estructuras poliédricas.

Según describen numerosos autores, las formas esferolíticas detectadas con frecuencias en los cálculos postinfecciosos, se corresponden con fosfato cálcico y, menos

veces, con urato amónico (García de la Peña y Cifuentes 1981). Tales formaciones se detectan en gran número de cálculos del aparato urinario y pertenecen a la llamada *serie apatítica*. Esta serie está constituida por diversos compuestos, de los que el más característico y más básico es la *HIDROXIAPATITA*, de fórmula química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , que cuando es perfectamente estequiométrica, fenómeno no encontrado en los cálculos humanos o experimentales descritos hasta la fecha, presenta un cociente  $\text{Ca/P} = 1,666$ . El otro extremo de la serie apatítica es el fosfato octacálcico:  $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Entre ambos extremos, la hidroxiapatita y el fosfato octacálcico, existe toda una serie gradual de componentes intermedios que han venido siendo denominados "apatitas fosfocálcicas deficientes o no estequiométricas", ya que no pueden ser definidas por una fórmula química fija. Estas apatitas deficientes son las habitualmente detectadas formando parte de los cálculos infecciosos de tipo estruvítico, habiéndose pues incluso aportado una fórmula general para estas apatitas deficientes configuradoras de las estructuras litiásicas, que sería  $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , donde "x" podría tener valores entre 0 y 2. En la afirmación de la generalidad de los autores, los fosfatos cálcicos biológicos, entre ellos los de los cálculos, son apatitas deficientes sin fórmula fija, y su aspecto morfológico microscópico, aunque algo variado, está casi siempre incluido en la línea microgranular o esferolítica, hallándose descritas en la literatura formaciones cristalográficamente perfectas en forma de gránulos erizados con espículas radiantes que sobresalen de sus bordes externos e irradian en todas direcciones, idénticas a las aportadas en este estudio. De hecho, el patrón morfológico descrito en la literatura referida a los esferolitos fosfocálcicos observados a través del microscopio

electrónico de barrido, aparece bien definido, a veces con superficie lisa, otras con espículas radiantes o apenas esbozadas, como agrupaciones de superficie ondulante, con direcciones caprichosas y formando estructuras que recuerdan los tejidos orgánicos, coincidentes con lo que anteriormente hemos descrito como "granulomas vegetantes" al observar algunas de las estructuras líticas objeto de esta Tesis (Sears 1961, Winand 1963, Cifuentes 1965, Berry 1967, Hesse, Schneider y colbs. 1973, Gonzalez Díaz, e Hidalgo 1975, Dosch y Koestel 1975-1/75-2, Gonzalez Díaz, Santos y colbs. 1976, Alonso y Somacarrera 1976, Berg, Hesse y colbs. 1976, Hesse, Lange y colbs 1977, Cifuentes, Carmona y cobs. 1977, Blaschke y Schmandt 1978, Gonzalez Díaz y Santos 1978, Gonzalez Díaz, García Ramos y colbs. 1979, Hesse, Lange y colbs. 1979, Carmona, Bellanato y colbs. 1980, Dosch 1980, Dosch y Eisen 1980, Konjiki, Sudo y colbs. 1980, Hesse, Hicking y colbs. 1980, García Ruiz, Acevedo y colbs. 1981, Hesse, Hicking y colbs. 1981, Meyer-Jurgens 1981, Hesse y Bach 1982).

La descripción morfológica de las litiasis detectadas en nuestro modelo experimental se halla en consonancia con lo previamente aportado por algunos investigadores que afirman que no existen los cálculos de estruvita pura, y que éstos *siempre* se hallan mezclados, en mayor o menor proporción, con cantidades significativas de fosfato cálcico apatítico en su forma esferolítica (Spector y Jameson 1976, Spector, Garden y colbs. 1978, Cifuentes 1984, Khan y Hackett 1986/87).

En el examen morfológico de nuestras litiasis, a nivel de su topografía superficial, tal y como hemos descrito con anterioridad, se han detectado "huellas" de material sobreañadido de aspecto vermiforme arracimado en ocasiones, o bien, redondeadas y

protruyendo en la masa lítica otras veces (Figura 6C). La morfología de este material sugiere la apariencia de contaminación bacteriana "impresa" sobre la masa pétreo de la litiasis, pudiendo tratarse de estructuras baciliformes las formas arracimadas y cocciformes las formas redondeadas. Este dato contradice lo aportado por algunos autores que afirman que los gérmenes incorporados a la masa del cálculo no pueden detectarse, porque la fermentación amoniacal los destruye una vez que su ciclo vital ha terminado (Crawford 1984). Aún cuando esta afirmación goza de aceptación casi general entre los investigadores del tema, ya Cifuentes en 1977 expuso la posibilidad de que ciertas imágenes detectadas con el microscopio electrónico pudieran tratarse de material bacteriano calcificado (Cifuentes y Santos 1977). A nuestro juicio, creemos podemos afirmar que las imágenes detectadas por nosotros al respecto como material sobreañadido a la masa lítica, pudieran ser compatibles con formas bacterianas "fosilizadas", constituyendo una prueba visual de la contaminación bacteriológica del cálculo infeccioso, extremo ya preconizado por Thomson en 1973 (Thomson y Stamey 1973). Igualmente, se han detectado acúmulos de bandas uromucoides en nuestras muestras (Figura 4C), de muy frecuente asociación a procesos infecciosos, como ya indicara Hallson en 1979, aunque tales sustancias, aún cuando se hallan aumentadas en todo proceso infectivo, no se le ha reconocido aún un papel etiopatogénico relevante en este fenómeno (Hallson y Rose 1979).

Tras las consideraciones vertidas en torno a la metodología del estudio microscópico seguido en el desarrollo de nuestra Tesis y de los patrones morfológicos obtenidos con el mismo, es obligado concluir este capítulo con la "Discusión" de la metodología de la técnica microanalítica utilizada y los resultados obtenidos con la



misma.

En este sentido, hemos de comenzar diciendo que el estudio microanalítico de los elementos constituyentes de una estructura determinada, en combinación con la observación de dichas estructuras en estudio por microscopía electrónica de barrido, constituye una técnica de reciente incorporación al estudio e identificación de litiasis urinarias u otro tipo de formaciones. La complementariedad de ambos métodos de estudios queda fuera de toda duda en la afirmación de Khan y cols., cuando dicen que "mientras el hábito morfológico cristalino puede ser reconocido por el microscopio electrónico de barrido, la naturaleza química puede ser determinada por el análisis elemental o microanálisis" (Khan y Hackett 1986).

Sin embargo, el método microanalítico, como afirman diversos autores sufre de ciertas limitaciones, que en algunos casos, incluso les convierte en una técnica inferior en capacidad discriminativa a la observación visual del objeto de estudio. A este respecto, las observaciones de Otnes y Rodger afirman que la identificación cualitativa de los componentes de las litiasis son ocasionalmente más susceptibles de obtenerse por observación microscópica que por microanálisis, añadiendo en este sentido que los estudios microscópicos ayudan a determinar la secuencia de estratificación o deposición de minerales desde el núcleo litiásico hacia su periferia, lo cual no es posible con la difracción de rayos X (Rodger 1981, Otnes 1983, Rodger 1985). Esta limitación se veía parcialmente compensada por el hecho, afirmado por Kim, de que las estructuras litiásicas susceptibles de originarse en un organismo, se disponen siempre en placas o láminas, por lo que la simple identificación de las mismas a través de su topografía

superficial sería suficiente como medio diagnóstico, aún cuando no desde un punto de vista del esclarecimiento etiopatogénico (Kim, Resau y colbs. 1984). De una u otra forma, en la línea de estos mismos autores, puede afirmarse que, mientras la observación por microscopía se halla sujeta a la experiencia visual subjetiva del observador, no ocurre así con el análisis elemental por energía dispersiva de rayos X, el cual, con mayor o menor exactitud, proporciona el espectro cuantitativo de la sustancia en estudio (Kim 1982, Kim, Resau y colbs 1984, Baker, Kupke y colbs. 1985, Khan y Hackett 1986/87).

El fundamento físico de esta técnica reside en el análisis espectral de las intensidades generadas en el punto de impacto por los rayos X que inciden sobre la muestra. El uso paralelo del microscopio electrónico de barrido permite escoger y dimensionar una superficie preseleccionada de la muestra, haciendo que el haz de rayos X generador del espectro incida sobre un área determinada de la pieza en estudio (Chambers, Hodgkinson y colbs. 1972, Panessa 1973, Kennoki, Mizuhira y colbs. 1978, Kim 1979, Kim 1982, Kim, Resau y colbs. 1984, Panessa 1984, Baker, Kupke y colbs. 1985, Khan y Hackett 1987, Ostrowki y Sklodowska 1991).

Debido a ello, en nuestra metodología microanalítica nos ha sido posible optar por dos modalidades. La primera de ellas (Modalidad Metodológica I: Análisis general) se llevó a cabo preseleccionando áreas de 7 micras cuadradas, en orden a efectuar un rastreo representativo de la estructura general de la litiasis y posterior muestreo estadístico de su composición elemental. En este mismo sentido, la segunda Modalidad (Modalidad Metodológica II: Análisis selectivo estructuras poliédricas -M2a- o

granulares -M2b- ) por la que optamos, orientadas al estudio microanalítico concreto de los dos patrones morfológicos detectados, se realizó sobre áreas de 0,006 micras cuadradas. La preselección de estos parámetros se efectuó en orden a una mayor discriminación que permitiera la objetivación previa por pantalla del patrón morfológico a microanalizar.

Por otro lado, en el análisis crítico de la técnica microanalítica, son de obligada referencia las limitaciones e inconvenientes que la misma ha presentado desde su reciente incorporación a este tipo de estudios. En este sentido, desde la primera aportación de un análisis espectrométrico de una sustancia cristalina por rayos X (Mathies y Lund 1967), puede afirmarse que esta tecnología ha ido perfeccionándose en orden a obviar las inexactitudes inherentes a la misma.

Así, una de las dificultades con las que tropieza el investigador a la hora de desarrollar un análisis espectral por técnica microanalítica, está en la detección de los elementos ligeros de bajo número atómico. Ello es debido en primer lugar a su escaso rendimiento de fluorescencia, en segundo lugar a su baja energía siendo fácilmente absorbidos por la propia muestra, y en tercer lugar a la absorción producida por la ventana de berilio que aísla el detector de la cámara de alto vacío donde se ubica la muestra. Por tanto, es necesario resaltar que los elementos de número atómico 1 a 8 no son detectados por este método (Kennoki, Mizuhira y cols. 1978, Rodger 1981). Un dato de importancia básica en este estudio lo constituye el material de recubrimiento de la muestra, ya que el oro, escogido en nuestra metodología microscópica para la observación del patrón morfológico, oculta la detección de elementos constituyentes de

diversos tipos de litiasis, como el fósforo (Leusmann 1983). En función de ello, es por lo que el recubrimiento de nuestras muestras destinadas a microanálisis se realizó con carbón, como se ha descrito en capítulo correspondiente de "Material y Métodos".

En el terreno concreto del estudio de estructuras litiásicas, el mayor inconveniente a obviar por los investigadores del tema fue precisamente el carácter de "masa tridimensional" o pieza de grosor variable "no plana" de tales estructuras. El carácter "no plano" de estas estructuras, en la afirmación de Boekstein, se define como el "grosor suficiente para disminuir la energía cinética del bombardeo electrónico a un nivel crítico de energía de ionización de una órbita determinada (K, L ó M) para el elemento en consideración" ( Boekstein, Stols y colbs. 1980). Este carácter confería a la técnica microanalítica, en comparación con el análisis elemental de estructuras planas, una clara limitación, dada la pobre resolución espacial de la difracción por rayos X (Hess 1980, Terzakis 1985). Con respecto a la cuantificación de los elementos surgieron a este respecto numerosos problemas, tales como el insuficiente conocimiento de la matriz del cálculo, las diferencias de densidad local, el efecto carga, la pérdida de masa, etc...(Love, Cox y colbs. 1975/76, Fuchs, Brombach y colbs. 1978, Love Cox y colbs. 1978).

Debido a ello, se han desarrollado en los años recientes numerosos estudios físico-matemáticos orientados a paliar las limitaciones descritas. Así pues, en orden a obtener por energía dispersiva un resultado microanalítico de alta fiabilidad han sido desarrollados modelos diversos orientados a la obtención final de un análisis elemental

acorde con la naturaleza cualitativa y cuantitativa exacta de la sustancia e. estudio, habiéndose desarrollado el conocimiento de constantes correctoras del número atómico (Z), la absorción de radiación (A) y la fluorescencia indirecta (F) derivada del ángulo de incidencia de rayos sobre la masa (Reed 1971, Staham 1978/79, Boekestein, Stols y colbs. 1980, Boekestein, Stadhouders y colbs. 1983, Griffin y Nockolds 1991, Gupta 1991).

El resumen de estos estudios ha dado lugar a lo que se conoce con el nombre de corrección-ZAF o programa corrector de las constantes capaces de distorsionar el estudio microanalítico. En este sentido, el programa BIOFLEX, preconizado por Boekestein y aplicado en nuestro estudio, recoge todas las consideraciones anteriormente vertidas en este sentido (Boekestein, Stadhouders y colbs. 1983).

Es así pues, que las litiasis objeto de nuestro estudio han sido microanalizadas teniendo en cuenta su carácter de "pieza tridimensional". Al mismo tiempo, cada determinación microanalítica ha sido realizada sobre 5 áreas distintas de la pieza, en orden a obtener un muestreo significativo de la misma, que posteriormente se sometió a análisis estadístico.

En este sentido, en lo que se refiere a los resultados obtenidos tras el estudio referido, es de destacar en las tablas V, VI y VII, referidas respectivamente a las modalidades metodológicas ya consignadas como M-1 (Análisis general), M-2a (Análisis selectivo estructura Poliedro) y M-2b (Análisis selectivo estructura Gránulo), la presencia casi uniforme de los mismos componentes elementales, cuales son "sodio, magnesio,

fósforo, azufre, cloro, potasio y calcio". Ocasional y esporádicamente se detecta en todas ellas la ausencia de algunos elementos, no detectados en una u otra determinación microanalítica, por otro lado elementos pobremente detectados desde un punto de vista cuantitativo a lo largo de toda la distribución estructural, cuales son sodio, azufre, potasio y cloro. Estos elementos, como hemos dicho, se reparten casi uniformemente, pero en pequeñas cantidades, por la topografía litiásica.

Por el contrario, los otros tres elementos detectados (calcio, fósforo y magnesio) se presentan en forma constante y cuantitativamente importante en todas las determinaciones microanalíticas realizadas.

De estos tres elementos que conforman con mayor importancia cuantitativa la estructura de la litiasis, destaca en la tabla V, referida a la Modalidad I, la mayor cantidad que se detecta uniformemente del componente "Fósforo", seguido de "Magnesio" y "Calcio", éste último en menor cantidad.

La tabla VI, que refleja la Modalidad Metodológica M-2a, referida al análisis de estructuras poliédricas, refleja asimismo cifras cuantitativamente muy importantes de los componentes "Fósforo" y "Magnesio", junto a cantidades mínimas de "Calcio" y otros elementos.

Por el contrario, la tabla VII, referida a la Modalidad Metodológica M-2b que estudia el patrón estructural de las formas granulares, detecta cantidades muy importantes de "Calcio", frente a menores cuantificaciones del elemento "Fósforo", y aún menores

de "Magnesio".

En este mismo sentido, la tabla IX, que refleja los resultados estadísticos del microanálisis realizado, referido a los valores CPS (cuentas por segundo) y P/B (índice CPS/BKGD), refleja observaciones similares a las referidas anteriormente, en el sentido de ausencia esporádica junto a pequeñas cuantificaciones de los elementos "Sodio", "Azufre", "Cloro" y "Potasio", frente a cantidades más importantes y constantes de "Fósforo", "Magnesio" y "Calcio", en los valores correspondientes al análisis estadístico de la Modalidad Metodológica M-1, mientras que en los resultados de las modalidades M-2a y M-2b, destacan respectivamente las cuantificaciones de "Fósforo" y "Magnesio" para la primera, y "Calcio" y "Fósforo" para la segunda.

La obtención del PATRON MICROANALITICO obtenido tras el desarrollo estadístico de los valores de CPS reflejados en la tabla X, sujetos a las constantes correctoras del ZAF, como se objetiva en la tabla XI, se ha realizado en todas y cada una de las modalidades metodológicas consideradas.

A este respecto, destaca en la obtención del PATRON MICROANALITICO GENERAL (Gráfica V) la elevada tasa porcentual del elemento "Fósforo" (65.25%), junto a una menor cantidad de "Magnesio" (23.59%) y muy escasa de otros elementos, junto a un índice  $Ca/P = 0.072$ . Este patrón ratifica la composición básica del cálculo como una estructura de tipo estruvítico postinfeccioso, ya que son precisamente los elementos aquí mayormente cuantificados los depositados en este tipo de cálculos como consecuencia de la alteración que sobre su solubilidad determina la ureasa de los

gérmenes del género *Proteus* (Braude y Siemenski 1960, Griffith, Musher y colbs. 1973, Griffith, Musher y colbs. 1976, Griffith 1978, Robertson 1986). Por otro lado, el bajo valor del índice Ca/P, no refleja sino la escasa participación del elemento "Calcio" en este patrón general, elemento por otra parte escasamente detectado aunque siempre presente en los cálculos postinfecciosos (Cifuentes 1965, Berry 1967, Berg, Hesse y colbs. 1976, Cifuentes, Bellanato y colbs. 1978).

El PATRON MICROANALITICO POLIEDRO, obtenido con el desarrollo de la Modalidad Metodológica M-2a, reflejado en la Gráfica VI, proporciona algunos datos similares al anterior, en el sentido de contener mucho "Fósforo" (69.5%) y "Magnesio" (26.91%), junto a cantidades despreciables de otros elementos, presentando un índice Ca/P muy bajo ( $=0.007$ ). Este patrón coincide con lo aportado por los investigadores del tema de que nos hallamos ante cálculos de tipo estruvítico (fosfato amónico-magnésico), máxime si tenemos en cuenta que las estructuras morfológicas de las que parte el patrón descrito son las formas poliédricas ya descritas para este tipo de formaciones. En este sentido, diversas aportaciones coinciden en el hecho de que cuando convergen picos altos de "Fósforo" y "Magnesio" en la determinación microanalítica y estructuras poliédricas, se corresponden ineludiblemente con cálculos de ESTRUVITA (Blomen 1981, Khan y Hackett 1987, Rodriguez Rebollo, Torres y colbs. 1987). No obstante, aún cuando se halla fuera de toda duda la configuración básica de este tipo de estructuras, pudiera cuestionarse su perfección estequiométrica, dado que, como ya hemos indicado con anterioridad siguiendo a los investigadores del tema, un cálculo infeccioso es un laboratorio químico en plena labor, en el que las formas diversas de fosfato amónico-magnésico se combinan entre sí, desde la estruvita pura hasta el



ortofosfato trimagnésico, pasando por la newberyta y otras formas intermedias, algunas de las cuales fueron detectadas en nuestro estudio morfológico (Rodríguez Miñón y Santos 1981, Rodríguez Miñón, Santos y cols. 1981, Leusmann 1983, Leusmann, Meyer-Jurgens y cols. 1984, Cifuentes 1984), como hemos indicado previamente.

Por otra parte, el PATRON MICROANALITICO GRANULO, reflejado en la Gráfica VII, muestra una gran cantidad porcentual de "Calcio" (56.16%), junto a una menor proporción de "Fósforo" (33.83%) y muy escasa cuantificación de otros elementos, con un índice Ca/P = 1,666. Siguiendo a los autores del tema, la convergencia en el resultado microanalítico de los picos elevados de "Calcio" y "Fósforo", y la configuración granular esferolítica, coincide con la participación estructural de una forma habitual de FOSFATO CALCICO (Hesse, Scheneider y cols. 1973, Hesse, Lange y cols. 1977, Hesse, Lange y cols. 1979, Carmona, Bellanato y cols. 1980, Hesse, Hicking y cols. 1981, Hesse y Bach 1982, Khan y Hackett 1987). En este sentido, adelantábamos en nuestro análisis morfológicos de las estructuras granulares que tales formaciones granulares suelen corresponderse con lo que ha venido a denominarse "apatitas deficientes" o fosfatos cálcicos no estequiométricos de fórmula imprecisa, variable en una gama que va desde la hidroxiapatita pura al fosfato octacálcico (Cifuentes 1965, Cifuentes, Carmona y cols. 1977, Blaschke y Schmandt 1978, Meyer-Jurgens 1981). Es precisamente, siguiendo a Cifuentes, el valor del índice Ca/P el que aproxima al conocimiento de la estructura básica del cristal dentro de la gama apatítica. A este respecto, nuestro estudio revela un valor de dicho índice correlacionado con la existencia de HIDROXIAPATITA pura, en contradicción con la afirmación de diversos autores que niegan que ésta haya sido encontrada en estado puro

en los cálculos urinarios (Cifuentes 1965).

En resumen, puede afirmarse que el PATRON MICROANALITICO básicamente detectado en nuestras muestras se incluye entre los cálculos estruvíticos postinfecciosos, hallándose en menor proporción cierta cantidad de fosfato cálcico apatítico, como suele encontrarse habitualmente (Khan y Hackett 1986/87).

En otro sentido, el análisis estadístico del índice P/B en función del grupo experimental de pertenencia del animal, en orden a estudiar la hipotética evolución secuencial en el tiempo de la composición del cálculo, reflejado en la tabla XII, pone de manifiesto la escasa diferencia significativa de la composición estructural de las litiasis según el intervalo I/E. Así pues, el estudio al respecto del elemento "Sodio" aporta una diferencia estadísticamente significativa sólomente del grupo III respecto a los demás grupos, ya que este elemento no se detectó en los animales del grupo III, aunque las cantidades detectadas en los otros grupos fue muy escasa, dato que resta valor al resultado obtenido. Los elementos "Magnesio", "Cloro", "Potasio" y "Calcio" no presentaron diferencias entre sí, mientras que para el elemento "Fósforo" fue también el grupo III quien presentó una escasa variación ( $p < 0.05$ ) con respecto a los grupos II y IV. Por último, el elemento "Azufre" del grupo III también presentó una escasa variación ( $p < 0.05$ ) con respecto a los grupos II y V.

En resumen y al margen de estas escasas variaciones, puede considerarse la composición estructural de las litiasis prácticamente homogénea en todos los grupos experimentales. Este resultado pone de manifiesto que el factor litogénico infeccioso

desarrollado en nuestro modelo experimental es el mismo a lo largo de todo el proceso considerado, ya que no han sido encontradas diferencias en su evolución secuencial en cuanto a los resultados obtenidos, dato por otra parte similar al aportado en otros modelos de litogénesis, que no refieren variaciones secuenciales en el tiempo (Shimamura 1987, Takahashi, Okada y colbs. 1988, Núñez, Sanjuán y colbs. 1987).

Por último, en lo que se refiere al análisis estadístico efectuado en orden a establecer una hipótesis de contraste entre los dos patrones morfológicos básicos detectados (poliédrico y granular), tal y como reflejan la tabla XIII y la gráfica VIII, de éste se infiere una importante diferencia entre ambos. Así puede observarse que mientras las cuantificaciones de "Sodio", "Azufre", "Potasio" y "Cloro" han presentado resultados similares y escasamente importantes cuantitativamente para ambos patrones, no así ha sucedido con el "Fósforo", "Magnesio" y "Calcio", pudiendo observarse el predominio del elemento "Magnesio" en las estructuras poliédricas, frente al predominio del elemento "Calcio" en las estructuras granulares y menor diferencia en la cuantificación de "Fósforo". De estos datos se desprende una diferencia significativa en la composición de los elementos cuantitativamente más importantes para la estruvita (Fósforo y Magnesio) y para la hidroxiapatita (Fósforo y calcio), datos que vienen a corroborar lo afirmado previamente en nuestros hallazgos morfológicos y microanalíticos (Aboulker, Bernard y colbs. 1971, Somacarrera y Alonso 1972, Dosch y Koestel 1975, Alonso y Somacarrera 1976, Hesse, Hicking y colbs. 1981, Kim 1982, Leussmann, Meyer-Jurgens y colbs. 1984, Navarro, Campos y colbs. 1990).

## CONCLUSIONES

1. El modelo quirúrgico utilizado en la presente Tesis Doctoral, la vesicosigmoidostomía término lateral con ligadura de uretra en ratas Wistar, pone de relieve su capacidad litogénica. Esta capacidad se halla condicionada por los parámetros "peso" del animal de experimentación y latencia postquirúrgica, factores ambos que inciden positivamente en un mayor índice de litogenicidad.

2. La metodología que desarrollamos para el estudio con microscopía electrónica de barrido permite tipificar el patrón morfológico y su distribución topográfica en las formaciones litiásicas. La metodología que desarrollamos para el estudio microanalítico por detección de energía dispersiva de rayos X permite identificar cualitativa y semicuantitativamente los elementos químicos existentes en las estructuras litiásicas, generando ambas escasos resultados artefactuales.

3. El estudio con microscopía electrónica de barrido pone de manifiesto en las formaciones litiásicas una morfología esferoide-coraliforme, configurada en base a un núcleo amorfo rodeado de capas concéntricas. En la superficie se tipifican dos patrones microscópicos: un primer patrón poliédrico predominante y un segundo patrón granular irregularmente distribuido. Asimismo, la presencia de material baciliforme sobreañadido pone de relieve el componente bacteriano del fenómeno litogénico.

4. Los estudios microanalíticos generales (Modalidad metodológica M-1) realizados ponen de relieve la existencia de una composición elemental en las estructuras litiásicas constituida básicamente por niveles significativos de Magnesio y Fósforo, junto a cantidades menores de Calcio y otros elementos.

5. Los estudios microanalíticos realizados sobre estructuras poliédricas (Modalidad metodológica M-2a), ponen de relieve una presencia muy significativa de Magnesio y Fósforo. Este patrón es compatible con litiasis estruvíticas postinfecciosas de perfección estequiométrica variable.

6. Los estudios microanalíticos realizados sobre estructuras granulares (Modalidad metodológica M-2b), ponen de relieve una presencia muy significativa de Fósforo y Calcio. Este patrón es compatible con fosfato cálcico apatítico en forma de hidroxiapatita.

7. Los estudios realizados con la microscopía electrónica de barrido y el microanálisis en las formaciones litiásicas obtenidas con nuestro modelo experimental ponen de relieve una homogeneidad, tanto morfológica como microanalítica, evidenciándose por tanto que las litiasis son idénticas, con independencia de la cronología del proceso.

## BIBLIOGRAFIA

1. AARONSON I, MORGAN TC: " Ureterosigmoidostomy in childhood. The quality of life". J Ped Surg. 14: 1-9, 1979.
2. ABOULKER P, BERNARD E, THOMAS J: " La lithiase phosphatique primitive de la femme avec infection urinaire a proteus". Ann Urol. 5:1-6, 1971.
3. AGUILAR J, RODRIGUEZ T, TORRES C, DEL RIO S: "Estudio cristalográfico de los fosfatos en cálculos urinarios". Análisis clínicos. IX: 273-278, 1984.
4. ALONSO J, SOMACARRERA E:" Study of a renal lithiasis using a scanning electron microscope". Geol News. 10: 22-24, 1972.
5. ALONSO J, SOMACARRERA E: "Scanning microscopy in renal lithiasis". En: Urinary calculi, recent advances in aetiology, stone structure and treatment. L. Cifuentes-Delatte, A. rapado y A. Hodgkinson (Eds). Karger, Basel. pp: 256-263, 1973.
6. ALONSO J, SOMACARRERA E: "Métodos especiales. Ultraestructura de cálculos urinarios". En: Litiasis renal. Salvat (Eds.). Barcelona. pp: 15-40, 1976.
7. ANSELL ID, VELLACOT KD:"Colonic polyps complicating ureterosigmoidostomy". Histopathology. 4: 429-436, 1980.
8. ARAGONA F, MARTINEZ E, GARAT JM, MARTI J: "Instilación endovesical de aire: nuevo método para reducir las infecciones urinarias en las vejigas neurógenas. Experiencia preliminar". An Fund Puigvert. 1: 219-224, 1982.
9. ASPER R, SCHMUCKI O: "Erfahrungen mit instrumentellen methodem der Harsteinanalyse". Hel Chir Acta. 46: 393-399, 1979.
10. BAILEY CB: "A scanning electron microscope of siliceous urinary calculi from



cattle". Invest Urol. 10: 178-182, 1972.

11. BAKER D, KUPKE KG, INGRAM P, ROGGLI VL, SHELBURNE JD: "Microprobe analysis in human pathology". SEM. II: 659-666, 1985.

12. BAKKER NJ, VAN DAMME KJ, VOOGT HJ: "Follow up of 13 children after ureterosigmoidostomy". Arch Dis Childhood. 51: 544-547, 1976.

13. BALCERZAK SP, LANE WC, BULLARD JW: "Surface structure of intestinal epithelium". Gastroenterology. 85,1: 49-52, 1970.

14. BARRAT TM: "Urolithiasis: medical aspects". En: Paediatric Urology. 2nd edition. Williams D.I. & Johnston J.H. (Eds.) London. Butterworth. pp: 351-362, 1982

15. BARRET DM, FURLOW WL: "The management of severe urinary incontinence in patients with myelodisplasia by implantation of the AS 791/792 urinary sphincter device". J Urol., 128: 484-490, 1982.

16. BARRET DM, FURLOW WL: "Radical prostatectomy incontinence and the AS 791 artificial urinary sphincter". J. Urol., 129: 528-533, 1983.

17. BASTIAN HP, GEBHARDT M: "Möglichkeiten und Erscheinungsformen bei der Auflösung von Harnsteinen". En: Pathog. Klin. Harnsteine. Steinkopff-Darmstadt, pp: 143-149, 1975.

18. BASTIAN HP, GEBHARDT M: "Rasterelektronenmikroskopie". En: Urolithiasis. W. Vahlensieck (Eds.). Springer Verlag. Berlin. Vol. I, pp: 127-140, 1979.

19. BAUER SB, COLODNY AH, HALLET M, KHOSBIN S, RETIK AB: "Urinary undiversion and myelodisplasia: criteria for selection and predictive value of urodynamic evaluation". J Urol. 124: 89-94, 1980.

20. BAUER SB, RETIK AB, COLODNY AH: "The unstable bladder of childhood". Urol Clin North Amer. 7: 321-325, 1980.

21. BAUER SB, COLODNY AH, HALLET M: "Urinary undiversion and myelodisplasia. Criteria for selection". J Urol. 128: 102-105, 1981.
22. BERG W, HESSE A, SCHNEIDER HJ: "A contribution to the formation mechanism of calcium oxalate urinary calculi. III: On the role of magnesium in the formation of oxalate calculi". Urol Res. 4: 161-170, 1976.
23. BERRY EE: "The structure and composition of some calcium deficient apatites". J Inorg Nucl Chem. 29: 317-330, 1967.
24. BLASCHKE R, SCHMANDT W: "Kugelförmige calciumphosphat-konkremente im harn und in der kernzone von oxalatsteinen". En: Pathog. Klin. Harnsteine. pp: 84-90, 1978.
25. BLOMEN LJMJ: "Anwendung der Rasterelektronenmikroskopie bei der Urolithiasis". En: Pathog. Klin. Harnsteine. pp: 216-218, 1981.
26. BOKESTEIN A, STOLS ALH, STADHOUDERS AM: "Quantitation in X-ray microanalysis of biological bulk specimens". SEM. II: 321-334, 1980.
27. BOKESTEIN A, STADHOUDERS AM, STOLS AH: "Quantitative biological x-ray microanalysis and bulk specimens: an analysis of inaccuracies in ZAF-correction". SEM. II: 725-731, 1983.
28. BOYCE WH: "Ultrastructure of human renal calculi". En: Urinary calculi, recent advances in aetiology, stone structure and treatment. L. Cifuentes-Delatte, A. Rapado y A. Hodgkinson (Eds.). Karger, Basel. Vol. I. pp: 247-260, 1972.
29. BOYCE WH: "Some observations on the ultrastructure of idiopathic human renal calculi". En: Urolithiasis. Physical aspects. B Finlayson, LL Hench y LH Smith (dirs.). Nat Acad Sc Washington D.C.(Eds.). pp: 97-117, 1972.
30. BOYD JD: "Chronic acidosis secondary to ureteral transplantation". Am J Dis

Child. 42: 366-371, 1931.

31. BRAUDE AI, SIEMENSKI J: "Role of bacterial urease in experimental pyelo-nephritis". J Bacteriol. 80: 171-176, 1960.

32. BRICKER EM: "The technic of ileal segment bladder substitution". Prog Gynecol. 3: 695-699, 1955.

33. CARMONA P, BELLANATO J, CIFUENTES-DELATTE L: "Trimagnesium orthophosphate in renal calculi". Invest. urol. 18: 151-156, 1980.

34. CARR RJ: "The pathology of urinary calculi: sedimentation". Brit J Urol. 28: 240-244, 1956.

35. CARR RJ: "Aetiology of renal calculi: microradiographic studies". En: Renal Stone Res. Symp. pp: 123, 1968.

36. CASTEJON F, FRAILE A, PONZ F: "Fundamentos de fisiología animal". 1ª edición. Eunsa (Eds). Pamplona, pp: 421-433, 1979.

37. CASTIÑEIRAS J, LOPEZ A, RODRIGUEZ-RUBIO F: "Neoplasias colonicas. Una complicación de la ureterosigmoidostomía". Actas Urol Esp. 12,4: 308-310, 1988.

38. CHAMBERS A, HODGKINSON A, HORNING G: "Electron probe analysis of small urinary tract calculi". Invest. Urol., 9: 376-384, 1972.

39. CHUTE R, SUBY HI: "Prevalence and importance of urea splitting bacterial infections of the urinary tract in the formation of calculi". J Urol. 44: 590-599, 1943.

40. CIFUENTES-DELATTE L.: "Los fosfatos cálcicos de la serie apatítica (su interés para el problema de la litiasis renal)". Rev Clin Esp. 99: 345-350, 1965.

41. CIFUENTES-DELATTE L, CARMONA P, BELLANATO J, SANTOS M, HIDALGO A: "Trimagnesium phosphates in renal calculi. En: Pathog. Klin. Harnsteine.

pp: 196-199, 1977.

42. CIFUENTES-DELATTE L, SANTOS M: "Calcified bacteria in renal stones: electron microscopic aspects". *Eur Urol.* 3:96-99, 1977.

43. CIFUENTES-DELATTE L, BELLANATO J, SANTOS M, HIDALGO A: "Brushit in Harnsteinen". En: *Pathog. Klin. Harnsteine.* VI. pp: 1-60, 1978.

44. CIFUENTES-DELATTE L: "Estudio microscópico de los componentes de los cálculos en la lupa binocular, láminas delgadas y microscopio electrónico de barrido". En: *Composición y estructura de los cálculos renales.* Barcelona. Salvat (Eds.) I. pp: 107-116, 1984.

45. CIPOLLA R, GARCIA RL: "Colonic polyps and adenocarcinoma complicating ureterosigmoidostomy. Report of a case". *Am J Gastroenterol.* 79: 453-457, 1984.

46. CLARK MA, O'CONNELL KJ: "Scanning and transmission electron microscopic studies of an exstrophic human bladder". *J Urol.* 110: 481-490, 1973.

47. COFFEY RC: "Physiologic implantation of the severel ureter or common bile duct into the intestine". *J.A.M.A.* 56: 397-411, 1911.

48. CORBETT CR, LLOYD-DAVIES RW: "Long-term survival after urinary diversion: reappraisal of ureterosigmoidostomy". *Eur Urol.* 2: 221-228, 1976.

49. CRAWFORD D: "Electron microscopy of urinary calculi -some facts and artifacts". *Urol. Res.,* 12: 17-22, 1984.

50. CROSS RE: "Urinary and fecal incontinence of neurogenic origen". En: *Surgery of infancy and chilhood.* Philadelphia. W.B. Saunders Co. (Eds.). Chapter 56, pp: 740-756, 1940.

51. DAHER N, ABOURACHID H, BARA J.: "Histoire naturelle des tumeurs dans la cancérogenése après urétérosigmoïdostome". *Journal d'Urologie.* 95,3: 139, 1989.

52. DEVILLERS C, CLAIRAMBAULT P: "Vertebrados. Anatomía comparada". En <Zoología>. Toray-Masson S.A. (Eds.), Barcelona. Vol. II. pp: 488-492, 1977.
53. DOSCH W, KOESTEL C: "Rastelelektronenmikroskopie von Harnsteinen". Z Urol 68: 35-43, 1975.
54. DOSCH W, KOESTEL C: "Rasterelektronenmikroskopie von harnsteinen". En: Pathog. Klin. Harnsteine. IV. Steinkopff, Darmsdat, pp: 41-47, 1975.
55. DOSCH W: "Morphologie von Harnsteinen". VI. Jenaer Symp., 112, 1980.
56. DOSCH W, EISEN M.: "Monohydroxocalcit, eine neue Harnsteinkomponente". VI. Jenaer Symp., 116, 1980.
57. DRETHER SP: "The pathogenesis of urinary tract calculi occurring after ileal conduit diversion: I. Clinical study; II. Conduit study; III. Prevention". J Urol 109: 204, 1973.
58. DUBE S, PERREAULT JD, DUMONT A, BERNARD D.: "Colorrectal neoplasm: a rare complication of ureterosigmoidostomy". Can J Surg. 22: 217-219, 1973.
59. DUNN M, ROBERTS JB, SMITH J: "Benign tumors developing at the site of ureterosigmoidostomy". Brit J Urol. 51: 260-267, 1979.
60. ECKSTEIN HB, HOHENHELLNER R, WILLIAMS ID: "Permanent Urinary Diversion. En: Surgical Paediatric Urology. Georg Thieme (Publishers). Stuttgart. Vol. I. pp: 333-373, 1977.
61. ELLIOT J, SHARP R, LEWIS L: "The solubility of struvite in urine". J Urol. 81: 363-368, 1959.
62. ERAKLIS AJ, FOLKMAN MJ: "Adenocarcinoma at the site of ureterosigmoidostomy for extrophy of the bladder". J Ped Surg. 13: 730-733, 1978.

63. FAURE G, NETTER P, MALAMAN B: "Scanning electron microscopic study of microcrystals implicated in human diseases". SEM, III: 163-171, 1980.
64. FERGUSON C, BALFOUR T, PADFIELD J.: "Ureterosigmoidostomy complicated by polyp formation. Report of two cases". Dis Colon Rectum. 31: 961-963, 1988.
65. FERRIS DO, ODEL HM: "Electrolyte pattern of blood after ureterosigmoidostomy". J.A.M.A. 142: 634-640, 1950.
66. FILMER RB, SPENCER JR: "Malignancies in bladder augmentations and intestinal conduits". J Urol 143: 671-677, 1990.
67. FLEISCH H: "Mechanismen der Harnsteinbildung". Z Klin Nephrol. 3: 112-118, 1974.
68. FLEISCH H: "Inhibitors and promoters of stone formation". Kidney Int. 13: 361-371, 1978.
69. FUCHS W, BROMBACH JD, TRÖSCH W: "Charging effect in electron-irradiated ice". J Microsc., 112:63-74, 1978.
70. FUKUDA K, TANAKA M, TANASE H: "X-ray microanalysis of spontaneously formed urinary calculi in a jaundiced strain of rat". Exp Mol Path. 40: 21-25, 1984.
71. FURLOW WL: "Implantation of a new semiautomatic artificial genitourinary sphincter: experience with primary activation and deactivation in 47 patients". J Urol. 126: 741-753, 1981.
72. GARAT JM, ARAGONA F, MARTINEZ E: "Vessies neurogènes par traction médullaire". J d'Urol. 91: 145-147, 1985.
73. GARCIA DE LA PEÑA E, CIFUENTES DL: "Forms of ammonium urate presentation in urinary calculi of non-infections origin". En: Urolithiasis. Clinical and

Basic Research. Smith, L.H. & Robertson W.G. (Eds.). Plenum Press. New York. pp: 939-942, 1981.

74. GARCIA-RUIZ J, ACEVEDO LOPEZ V, AMOROS JL: "On the transition of amorphous calcium phosphate to crystalline octacalcium phosphate". En: Urolithiasis. pp: 459-461, 1981.

75. GAUSSIN G, OLIVIEUX A, ZIEDE E: "La lithiase coralliforme du rein de l'adulte". Ann Urol 13: 143-149, 1979.

76. GAUSSIN G, OLIVIEUX A, ZIEDE, E.: "La lithiase coralliforme du rein de l'adulte. A propos de 92 calculs chez 80 malades". Sem Hop Paris. 56: 549-560, 1980.

77. GIL-VERNET JM: "Technique for construction of a functioning artificial bladder". J Urol. 83: 39-43, 1960.

78. GIL-VERNET JM: "The ileocolic segment in urologic surgery". J Urol. 94: 418-422, 1965.

79. GILCHRIST RK, MERRICKS JW, HAMLIN HH, RIEGER IT: "Construction of a substitute bladder and urethra". Surg Gynec and Obst. 90: 752-760, 1950.

80. GONZALEZ-DIAZ PF, HIDALGO A: "Contribución al estudio de las carbonato-apatitas". Optica pura y aplicada. 8: 51-55, 1975.

81. GONZALEZ-DIAZ PF, SANTOS M, BELLANATO J, HIDALGO A, CIFUENTES-DELATTE L: "Composition of deficient apatitic calcium phosphates in renal calculi. En: Urolithiasis Research. pp: 281-290, 1976.

82. GONZALEZ-DIAZ PF, SANTOS M: "Magnesium influence in calcium apatites in human urinary calculi": En: Pathog. Klin. Harnsteine. Vol. VI. pp: 334-338, 1978.

83. GONZALEZ-DIAZ PF, GARCIA RAMOS JV, SANTOS M: "Composition of apatites in human urinary calculi". Calcif Tissue Int. 28: 215-219, 1979.

84. GONZALEZ R, SHELDON DA: "Artificial sphincters in children with neurogenic bladders: long-terms results". J Urol. 128: 1270-1278, 1982.
85. GOODWIN WE, HARRIS AP, KAUFMANN JJ, BEAL JM: "Open transcolonic ureterointestinal anastomosis: new approach". Sur Gynec and Obst. 97: 295-300, 1953.
86. GOODWIN WE, SCARDINO PT: "Ureterosigmoidostomy". J Urol. 118: 169-177, 1977.
87. GOSALBEZ R, GARAT JM: "Derivaciones urinarias". En: Urología Pediátrica. Salvat (Eds). Barcelona. Cap. 16: 451-470, 1986.
88. GREGOIR W, SCHULMAN CC: "Exstrophy of the bladder. Treatment trigonosigmoidostomy. Long-term results". Br J Urol. 50: 90-96, 1978.
89. GRIFFIN BJ, WICKOLDS CE: "A routine correction for electron beam intensity variation during quantitative EDS microanalysis using continuum radiation". Scanning. 13,4: 307-311, 1991.
90. GRIFFITH DP, MUSER DM, CAMPBELL JW: "Inhibition of bacterial urease". Invest Urol. 11: 234-239, 1973.
91. GRIFFITH DP, MUSER DM, ITIN C: "Urease: the primary cause of infection-induced urinary stones". Invest Urol. 13: 346-355, 1976.
92. GRIFFITH DP: "Struvite stones". Kidney Intern. 13: 372-380, 1978.
93. GUILLEN CAVERO M: "Cómo se forman los cálculos del aparato urinario". Arch Esp Urol. 23: 117-130, 1970.
94. GUILLEN CAVERO M: "Inclusiones y penetraciones entre los cristales de los cálculos". Arch Esp Urol. 23: 349-352, 1970.
95. GUILLEN CAVERO M.: "Semejanzas que tienen los cálculos con las rocas y minerales". Arch Esp Urol. 25: 135-144, 1972.



96. GUILLEN CAVERO M.: "Cálculos, rocas y minerales". Arch Esp Urol. 26: 115-118, 1973.
97. GUPTA BL: "Hall, Ted and the science of biological microprobe X-ray analysis. A historical perspective of methodology and biological dividends". Scanning Microscopy. 5,2: 379-382, 1991.
98. GUZMAN L, BAUER SB, HALLET M: "The evaluation and management of children with sacral agenesis". Urology. 23: 506-510, 1983.
99. HALLSON PC, ROSE GA: "Uromucoids and urinary stone formations". Lancet 1: 1000-1003, 1979.
100. HAMMER E: "Cancer du côlon sigmoïde dix après implantation des uretères d'une vessie exstrophée". J Urol. 28: 260-266, 1929.
101. HARFORD F, FAZIO V, EPSTEIN L, HEWIT CL: "Rectosigmoid carcinoma occurring after ureterosigmoidostomy". Dis Colon Rectum. 27: 321-322, 1984.
102. HARVARD BM, THOMSON GJ: "Congenital exstrophy of the urinary bladder: late results of treatment by Coffey-Mayo method of ureterointestinal anastomosis". J Urol. 65: 223-229, 1951.
103. HEBEL R, STROMBERG MW: "Anatomy of the laboratory rat". Williams-Wilkins Co. (Eds.). Baltimore. pp: 62-65, 1976.
104. HEIDLER H, MARBERGER M, HOHENFELLNER R.: "The metabolic situation in ureterosigmoidostomy". Eur Urol. 5: 39-45, 1979.
105. HENDREN WH: "Reconstruction of previously diverted urinary tracts in children". J Ped Surg. 8,2: 135-140, 1973.
106. HENDREN WH: "Urinary tract refunctionalization after prior diversion in children". Ann Surg. 180: 494-511, 1974.

107. HENDREN WH: "Non-refluxing colon conduit for temporary or permanent urinary diversion in children". J Ped Surg. 10: 381-388, 1975.
108. HENDREN WH: "Urinary diversion in children". Surg Clin N Amer. 1: 425-433, 1976.
109. HENDREN WH: "Exstrophy of the bladder. An alternative method of management". J Urol. 115: 195-205, 1976.
110. HENDREN WH: "Some alternatives to urinary diversion in children". J Urol. 119: 652-659, 1978.
111. HENDREN WH: "Ureterocolic diversion of urine. Management of some difficult problems". J Urol. 129: 719-723, 1983.
112. HESS FD: "Influence of specimen topography in microanalysis". En: X-ray microanalysis in biology. M.A. Hayat (Eds.). University Park Press, Baltimore, pp: 241-262, 1980.
113. HESSE A, SCHNEIDER HJ, WEITZ G, CRUSE R, KLEE W.: "Magnesium ammonium phosphate dihydrate. A hitherto undetected constituent of urinary calculi". J Urol. 88: 545-549, 1973
114. HESSE A, LANGE P, BERG W, BOTHOR C.: "Mikrosondenuntersuchungen an Phosphatphasen von Harnsteinen". Berichte V Jaener Symp., 98, 1977.
115. HESSE A, LANGE P, BERG W: "Scanning electron microscope and microprobe investigation of phosphate phases uroliths". Urol Int. 34: 81-88, 1979.
116. HESSE A, BERG W, BOTHOR C.: "Scanning electron microscopic investigations on the morphology and phase conversion of uroliths". Int Urol Nephrol. 11:11-20, 1979.
117. HESSE A, HICKING W, BACH D: "Investigation of characterising single

crystal phases in urinary stones by means of an arrangement of light microscopy in combination with scanning electron microscopy". *Urol Res.* 8: 243-249, 1980.

118. HESSE A, HICKING W, BACH D: "Characterisation, sections of urinary calculi by means of on optical microscope and scanning electron microscopic arrangement". *Urol Int.* 36: 281-291, 1981.

119. HESSE A, BACH D.: "Harnsteine-Pathobiochemie und Klinischchemische Diagnostik". En: *Klinische Chemie in Einzeldarstellungen.* Thieme (Eds.). Stuttgart, New York. pp: 1-139, 1982.

121. HICKS RM: "The mammalian urinary bladder: an accommodating organ". *Biol Rev* 50: 215-222, 1975.

120. HICKS RM, WAKEFIELD J: "Membrane changes during urothelial hyperplasia and neoplasia". *Cancer Research* 36: 2502-2520, 1976.

122. HILL RW: "Fisiología animal comparada". Reverté S.A. (Eds.). Barcelona. pp: 361-365, 1980.

123. HODGES GM, MUIR MD, SPACEY GD: "A scanning electron microscope study of normal and carcinogen-treated mouse bladder in vivo and in vitro". *SEM.* II: 589-599, 1973.

124. HODGSON PB: "The surface structure of the mouse urinary bladder. Normal and acute response to chemical injury". *Rev Fr Etudes Clin Biol.* 13: 999-1010, 1968.

125. ITATANI H, SONODA T: "New technique on anti-reflux ureteroileal anastomosis and its clinical experiences". *J Urol.* 119: 735-744, 1978.

126. JACOBS A, STIRLING WB: "The results of ureterocolic anastomosis". *Brit J Urol* 24: 259-266, 1952.

127. JEFFS RD, JONAS P, SCHILLINGER JF: " Surgical correction of

vesicoureteral reflux in children with neuropathic bladders managed by intermittent catheterization". J Urol. 125: 63-67, 1981.

128. KASS A: "Retrograde proteus pyelonephritis in rats". Am J Path. 43: 1-20, 1963.

129. KASS EJ, KOFF SA, DIOKNO AC: "Fate of vesicoureteral reflux in children with neuropathic bladder managed by intermittent catheterization". J. Urol, 62, 110-116, 1981.

130. KASWICK J, GOTTESMAN J, WALSMAN J, SKINNER D: "Anti-refluxing colon conduits for diversion of dilated upper urinary tracts". J Ped Surg. 13,6: 532, 1978.

131. KATONA F, ECKSTEIN HB: "The treatment of the neuropathic bladder by transurethral electrical stimulation: a preliminary report". Lancet. 1: 780-784, 1974.

132. KELALIS P: "Urinary diversion in children by the sigmoid conduit: its advantages and limitations". J Urol. 112: 666-677, 1974.

133. KENNOKI F, MIZUHIRA V, KONJIKI T: "Elemental analysis of urinary tract calculi using an electron microscope with electron X-ray microanalyzer". Acta Histochem Cytochem. 11: 387-399, 1978.

134. KHAN SR, FINLAYSON B, HACKETT RL: "Experimental induction of crystalluria in rats using mini-osmotic pumps". Urol Res. 11: 199-211, 1983.

135. KHAN SR, HACKETT RL: "Identification of urinary stone and sediment crystals by scanning electron microscopy and x-ray microanalysis". J Urol. 135: 818-830, 1986.

136. KHAN SR, HACKETT RL: "Role of scanning electron microscopy and x-ray microanalysis in the identification of urinary crystals". Scanning Microscopy. 1,3: 1405-

1417, 1987.

137. KIM KM: "X-ray analysis of pathological calcification including urinary stones".

SEM. II: 739-744, 1979.

138. KIM KM: "The stones". SEM. IV: 1635-1644, 1982.

139. KIM KM, LISAU J, CHUNG J.: "Scanning electron microscopy of urinary stones as a diagnostic tool". SEM. IV: 18-19, 1984.

140. KOCH MO, McDOUGAL WS, FLORA MD: "Urease and the acidosis of urinary intestinal diversion". J Urol. 146,2: 458-462, 1991.

141. KONJIKI T, SUDO T, KOYAMA M: "Mineralogical notes of apatite in urinary calculi". Calcif Tiss Int. 30: 101-110, 1980.

142. LEADBETTER WF, ZICKERMANN P, PIERCE E: "Ureterosigmoidostomy and carcinoma of the colon". J Urol. 121: 732-739, 1979.

143. LEIN WM: "Tumors of the sigmoid colon following ureterosigmoidostomy". Postgrad Med J. 49: 209-214, 1973.

144. LEUSMANN DB: "Routine analysis of urinary calculi by scanning electron microscopy". SEM. I: 387-397, 1983.

145. LEUSMANN DB, MEYER-JURGENS UB, KLEINHANS G: "Scanning electron microscopy of urinary calculi. Some peculiarities". SEM III: 1427-1433, 1984.

146. LIBERTINO JA, ZINMAN L: "Derivaciones urinarias". En: Cirugía urológica reconstructiva. Barcelona. Salvat (Eds.). pp: 187-196, 1982.

147. LIGHT JK, HURST GE, McINTYRE M, SCOT FB, GREGORY J, BAUER SB: "Artificial sphincter use. Dial. Pediatr." Urol. 4:11-15, 1981.

148. LIGHT JK; FLORES FN; SCOT FB: "Use of the artificial sphincter following urinary undiversion". J Urol. 120: 548-555, 1983.

149. LIGHT JK, HAWILA M, SCOT FB: "Treatment of urinary incontinence in children: the artificial sphincter versus other methods". J Urol. 130: 518-522, 1983.
150. LIGHT JK, SCOT FB: "Treatment of the epispadias-extrophy complex with the AS 792 artificial urinary sphincter". J Urol. 129: 738-744, 1983.
151. LIGHT JK, SCOT FB: "The artificial urinary sphincter in children". Br J Urol. 56: 54-58, 1984.
152. LINDER A, KAUFMANN JJ, RAZ S: "Further experience with the artificial urinary sphincter". J Urol. 129: 962-967, 1983.
153. LOBE Th E: "Conversion of an ileal conduit into a neourethral enteroplication for urinary continence: tips and proper construction". J Ped Surg. 12: 1040-1050, 1986.
154. LOPEZ-PEREZ G, MARTINEZ A, MACHUCA J, LOPEZ S, UNDA A, RODRIGUEZ M, MIGUELEZ C: "Experimental anti-reflux intestinal valve". Am J Surg. 141: 597-565, 1981.
155. LOVE G, COX MGC, SCOTT VD: "Assessment of Philibert's absorption correction models in electron probe microanalysis". J Phys D. 8: 686-702, 1975.
156. LOVE G, COX MGC, SCOTT VD: "Assessment of Bishop's correction model in electron-probe microanalysis". J Phys D. 9: 7-13, 1976.
157. LOVE G, COX MGC, SCOTT VD: "A versatile atomic number correction for electron probe microanalysis". J Phys D. 11: 7-21, 1978.
158. MANDELL J, BAUER SB, HALLET M: "Occult spinal dysraphism. a rare but detectable cause of voiding dysfunction". Urol Clin North Am. 7: 439-452, 1980.
159. MARKOWITZ AM, KOONTZ P: "The development of colonic polyps at the site of ureteral implantation". Surgery. 60: 761-777, 1966.
160. MATHIES JC, LUND PK: "X-ray spectroscopy in biology and medicine: Micro

and Ultramicro procedures for the quantitative determination of calcium, phosphorus, and sulfur in urinary calculi". Clin Chem. 13: 935-969, 1967.

161. McCONNELL JB, MURISON J, STEWART WK: "The role of colon in the pathogenesis hyperchloremic acidosis in ureterosigmoid anastomosis". Clin Sc. 57: 305-311, 1979.

162. MERETYK Sh, LANDAU EH, ELIMELECH O, LIGUNSKY M, SHAPIRO A: "Adenocarcinoma in an ileal conduit: a late recurrence of urethral adenocarcinoma". J Urol. 138: 859-868, 1987.

163. MEYER A, FINLAYSON B, DUBOIS L: "Direct observation of urinary stone ultrastructure". Brit J Urol. 43: 154-159, 1971.

164. MEYER-JURGENS UB: "Neve elektronemikroskopische untersuchungen an kalziumphosphatigen spheroliten in niere und harn". En: Pathog Klin Harsteine. 226: 32-43, 1981.

165. MITCHELL ME: "Diversion and undiversion in children". Surg Clin N Amer. 31: 1131-1138, 1982.

166. MOGG RA: "Neoplasms at the site of ureterocolic anastomosis". Br J Surg. 64: 758-766, 1977.

167. MOLLARD P: "Vessies neurologiques". En: Précis d'Urologie de l'enfant. Mason (Eds.). Paris. pp: 193-204, 1985.

168. MORALES P, GOLIMBU M: "Colonic urinary diversion: 10 years of experience". J Urol. 113: 302-309, 1975.

169. MUFFED H, MOHAMMED S, AWATIF A.: "Multiple benign colonic polyps at the site of ureterosigmoidostomy". Cancer. 53: 1006-1111, 1984.

170. NAVARRO A, CAMPOS A, CRESPO PV, ZULUAGA A, RODRIGUEZ T,

AGUILAR J: "Morphostructural patterns in staghorn renal calculi seen under the scanning electron microscope". Brit J Urol 66: 132-138, 1990.

171. NESBIT RM: "Ureterosigmoid anastomosis by direct elliptical connection: a preliminary report". J Urol. 61: 728-736, 1949.

172. NOACK W, JACOBSON M, SCHWEICHEL JU, JAIYYOUSI A: "The superficial cells of the transitional epithelium in the expanded and unexpanded rat urinary bladder". Acta Anat. 93: 171-181, 1975.

173. NURSE D, MUNDY A: "Assessment of the malignant potential of cystoplasty". Brit J Urol. 64: 489-499, 1989.

174. NUÑEZ R, SANJUAN S, CASTEJON J, ALONSO M, GONZALEZ M, GARCIA J, BLESA E: "Modelo experimental para el estudio de la urolitiasis en la derivación urinaria transigmoidea". Rev Quir Esp. 14,2: 89-94, 1987.

175. NUÑEZ R, BLESA E, RAMOS S, MORILLO M, ORTEGA L, REQUENA F, CARDESA JJ: "Complicaciones bioquímicas de la vesicosigmoidostomía experimental". An Esp Pediatr. 26.3: 209-212, 1987.

176. OSBORNE CA, POLZIN DJ, ABDULLAHI SU, LEININGER JR, CLINTON CW, GRIFFITH DP: "Struvite urolithiasis in animals and man: formation, detection and dissociation". Adv Vet Sci Comp Med. 29: 1-29, 1985.

177. OSTROWSKI M, SKLODOWSKA A: "The use of scanning electron microscopy and an electron microprobe in studies on oxidation of sulfur compounds by bacteria and bioleaching of heavy metals". FEMS Microbiology Letters. 82,1: 27-34, 1991.

178. OTNES B: "Urinary stone analysis, methods, materials and value". Scand J Urol Nephrol. 71,1: 1-20, 1983.

179. PANESSA BJ: "X-ray microanalysis of biological samples: considerations and



problems". J Submicrosc Cytol. 6: 81-88, 1974.

180. PANESSA BJ: "Basic biological X-ray microanalysis". SEM. IV: 713-719, 1983.

181. PARSON FM, POWEL FJ, PYRAH LM: "Chemical imbalance following ureterocolic anastomosis". Lancet. 27: 599-602 1952.

182. PARSONS J: "Magnesium dibasic phosphate identified as crystalline component of urinary calculus". J Urol. 76: 228-232, 1964.

183. PEKAROVIC E: "Indications and methods of urinary diversion in children". Z Kinderchir. 16: 167-170, 1974.

184. PERLMUTTER AD: "Experiences with urinary undiversion in children with neurogenic bladders". J. Urol. 123: 402-405, 1980.

185. PHANEUF-MIMEAULT F, TAWASHI R: "Scanning electron microscopic study of calcium oxalate concretions grown in gel system and calcium oxalate stones". Eur Urol. 3: 171-176, 1977.

186. PITTS RF: "Renal production and excretion of ammonia". Am Med J. 36: 720-724, 1964.

187. PRAWERMAN A: "Une lithiase renale spectaculaire: le calculi coralliforme". Ann Med Reims. 2: 113-119, 1974.

188. PRIEN EL, FRONDEL C: "Studies in urolithiasis: I. The composition of urinary calculi". J Urol. 57: 949-953, 1947.

189. QVIST N, KRONBORG O, HAGE E, FENGER CL: "Benign colonic neoplasm at the site of ureterosigmoidostomy". Eur Urol. 12: 360-370, 1986.

190. RAMOS FERNANDEZ R, NUÑEZ NUÑEZ R, RAMOS CEREZO S, RUIZ HERMOSA J, BLESÁ SANCHEZ E, CARDESA GARCIA JJ: "Modificaciones

bioquímicas de la derivación y desderivación urinaria transigmoidea: estudio experimental". Acta Pediatr Esp. 47,4: 242-249, 1989.

191. REED SJB: "The Backscattering correction for quantitative electron probe microanalysis with electrons incident at 45°". J Phys D. 4: 1910-1912, 1971.

192. RICHES EW, PAGE BH: "Transitional cell carcinoma of the colon following cystectomy and ureterosigmoidostomy for carcinoma of the bladder". Brit J Urol. 28: 288-293, 1956.

193. RICHIE SP, SKINNER DG, WAISMAN J: "The affect of reflux of the development of pyelonephritis in urinary diversion: An experimental study". J Surg Res. 16: 256-258, 1974.

194. ROBERTSON WG: "Pathophysiology of stone formation". Urol Int. 41: 329-333, 1986.

195. RODGER AL: "Analysis of renal calculi by X-ray diffraction and electron microprobe analysis: a comparison of two methods". Invest Urol. 19: 25-28, 1981.

196. RODGER AL: "The application of physicochemical procedures in the analysis of urinary calculi". SEM. II: 745-761, 1985.

197. RODRIGUEZ-MIÑON CIFUENTES JL, SANTOS M: "Newberyte in old renal and bladder calculi". En <Urolithiasis>. pp: 929, 1981.

198. RODRIGUEZ-MIÑON CIFUENTES JL, SANTOS M, MEDINA JA: "Newberyta en cálculos antiguos del aparato urinario". Arch Esp Urol. 43: 5-9, 1981.

199. RODRIGUEZ-REBOLLO T, TORRES RC, AGUILAR RJ: "Urolitiasis originada por infección". Arch Esp Urol. 40,4: 263-269, 1987.

200. ROMER AS, PARSONS TS: "Anatomía comparada". 5ª edición española. Interamericana (Ed.). México. pp: 259-261, 1981.

201. ROSVANIS Th, ROHNER Th, ABT A: "Transitional cell carcinoma in an ileal conduit". *Cancer* 63: 1233-1333, 1989.
202. ROTSCHAEFFER BL, SAX M, PLETCHER J: "Transition of amorphous magnesium ammonium phosphate to a crystalline state in rat urinary calculi induced by L-forms of proteus mirabilis". *Calcif Tiss Res.* 5: 80-90, 1970.
203. SCOT FB, LIGHT JK, FISHMAN I, WEST J: "Implantation of an artificial sphincter for urinary incontinence". *Contemp Surg.*, 18, 1981.
204. SCHULMAN C: "Les résultats éloignés des dérivations urinaires hautes chez l'enfant (Table Ronde)". *J d'Urol.* 85,2: 207-220, 1979.
205. SEARS GW: "The origin of spherulites". *J Phys Chem.* 65: 1738-1743, 1961.
206. SHAPIRO S, LEBOWITZ R, COLODNY AH: "Fate of 90 children with conduit urinary diversion a decade later: analysis of complications, pyelography, renal function and bacteriology". *J Urol.* 114: 289-301, 1975.
207. SHIMAMURA T: "Growth promotion by silk sutures in the urinary bladder of rats". *Exp Mol Pathol.* 47: 262-270, 1987.
208. SHIMAMURA T: "Growth promotion of urothelial cells by a silk suture in the bladder walls of rats". *Acta pathol Japon.* 37: 273-279, 1987.
209. SILVERMAN SH, WOODHOUSE CRJ, STRACHAN JR, CUMMING J, KEIGHLEY MRB: "Long-term management of patients who have had urinary diversions into colon". *Brit J Urol.* 58: 634-639, 1980.
210. SIMON J: "Ectopia vesicae. Operation for directing the orifices of the ureters into the rectum". *Lancet.* 2: 568-577, 1852.
211. SOMACARRERA E, ALONSO J: "Transmission electron microscopy studies on renal calculi". *En: Urinary calculi.* pp: 264-271, 1972.

212. SPECTOR M, JAMESON L: "Scanning electron microscopy of urinary calculi". SEM. II: 307-312, 1976.
213. SPECTOR M, GARDEN NM, ROUS SN: "Ultrastructure and pathogenesis of human urinary calculi". Brit J Urol. 50: 12-18, 1978.
214. SPENCE B, IRELAND G, KASS A: "Bacteriuria in intestinal loop urinary diversion in children". J Urol., 106: 780-788, 1971.
215. SPENCE B, STEWART W, KASS A: "Use of double lumen catheter to determine bacteriuria in intestinal loop diversion in children". J Urol. 198: 800-808, 1972.
216. STAHAM P: "A new method for particle X-ray microanalysis based on peak to background measurements". SEM. I: 469-478, 1978.
217. STAHAM P: "A ZAF-procedure for microprobe analysis based on measurements of peak-to-background ratios". En: 14th Annual Conference of the Microbeam Society. San Francisco Press. San Francisco. pp: 247-253, 1979.
218. STAMEY TA: "Infection stone". En: Urinary infections. Stamey T.A. (Eds.). The Williams & Wilkins Co. Baltimore. Chapter 8. pp: 213-220, 1972.
219. STEWART M: "Urinary diversion and bowel cancer". Ann R Coll Surg Engl. 68: 98-102, 1986.
220. STILLWELL Th, MYERS R: "Adenomatous polyp in defunctionalized colon segment used as a urinary bladder". Urology. 32,6: 538-543, 1988.
221. SULLIVAN H, GILCHRIST RK, MERRISCKS JW: "Ileocecal substitute bladder. Long term follow ups". J Urol. 109: 43-54, 1973.
222. SUTOR DJ: "Newberyte, its formation in urinary calculi". Nature. 218: 295-297, 1968.

223. SUTOR DJ: "Consutur of urinary calculi containing struvite". *Brit J Urol.* 47: 585-591, 1975.
224. SWIFT JA, MARSH MN: "Scanning electron microscopy of rat intestinal microvilli". *Lancet* 26: 915, 1968.
225. TAKASHASI S, OKADA K, LELKES L, SHIMAMURA T.: "Experimental urolithiasis in the bladder of rats". *Japan J Exp Med.* 58,6: 269-277, 1988.
226. TANNENBAUM M, TANNENBAUM S, CARTER HW: "SEM, BEI and TEM ultrastructural characteristic of normal, preneoplastic and neoplastic human transitional epithelia". *SEM. II:* 949-954, 1978.
227. TERHORST B, BUSS H: "Tierexperimentelle Untersuchungen zur formalen Steingenesse". *En: Pathog. Klin. Harnstein.* II, 25-32, 1974.
228. TERZAKIS JA: "X-ray microanalysis problem solving in surgical pathology". *Pathol Annual.* 20: 59-66, 1985.
229. THANK ES, KARSCH DN, LAPIDES J: "Adenocarcinoma of the colon associated with ureterosigmoidostomy: report of a case". *Dis Colon Rectum.* 16: 300-302, 1973.
230. THOMAS J, RODRIGUEZ F, LEVILLAIN A: "Calculs phosphatiques coralliformes. Données fournies par différentes techniques d'analyse physicochimiques". *J Urol Nephrol.* 83: 773-780, 1978.
231. THOMPSON RB, STAMEY TA: "Bacteriology of infected stones". *Urology.* 2: 627-634, 1973.
232. URDANETA L, DUFFELL D, CREEVY CD, AUST JB: "Late development of primary carcinoma of the colon following ureterosigmoidostomy: report of three cases and literature review". *Ann Surg.* 164: 103-113, 1965.

233. VERMEULEN C, LYON E, GILL W: "Artificial urinary concretion". Invest Urol. 1: 370-386, 1964.
234. VERMEULEN C, ELLIS JE, HSU TC: "Experimental observation on the pathogenesis of urinary calculi". J Urol. 95: 681-688, 1966.
235. WEAR JB, BARQUIN DP: "Ureterosigmoidostomy: long-term results". Urology. 1: 192-200, 1973.
236. WEBSTER GD, SIHELNIK SA: "Troubleshooting the malfunctioning Scott artificial urinary incontinence". J Urol. 131: 269-273, 1984.
237. WERNES PG, BERGERT JH, SMITH LH: "Crystalluria". J Crystal Growth. 53: 166-174, 1981.
238. WILHEM E: "A long-tunnel modification of the combined principle after Leadbetter and Clark as true anti-reflux uretero-ileal anastomosis". J Urol. 128: 636-639, 1982.
239. WILLIAMS DF, BURHOLDER GU, GOODWIN WE: "Ureterosigmoidostomy. A 15-year experience". J Urol. 101: 168-179, 1969.
240. WINAND L: "Etude physico-chimique de diverses carbonato-apatites". Bull Soc R Sci (Liège). 32: 575-590, 1963.
241. WONG YC, MARTIN FB: "A study by scanning electron microscopy of the bladder epithelium of the guinea pig". Am J Anat. 169: 237-244, 1977.
242. ZANDER M, SEGURA J: "Tumor of the colon following ureterosigmoidostomy". Urologe. 22: 215-219, 1983.
243. ZINCKE H, SEGURA J: "Ureterosigmoidostomy. Critical review of 173 cases". J Urol. 133: 423-444, 1975.
244. ZINMAN L, LIBERTINO AJ: "Ileocecal conduit for temporary and permanent

urinary diversion". J Urol. 113: 317-322, 1975.

245. ZULUAGA GA, TORRES RC, MARTINEZ TJL. "Litiasis coraliforme: evolución de los cálculos residuales". Acta Urol Esp. 3: 191-201, 1986.