REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA
R. esp. Fisiol., 21, n.º 4, págs. 165-172, 1965

Departamento de Bioquímica
Facultad de Farmacia. Madrid
(Director: Prof. A. Santos-Ruiz)

Estudios metabólicos con Zn-65

VII.—Vida media biológica del cinc en el cobayo

por

Iranzo, (*), Chueca, A., Junquera, S., García del Amo, C. (**) y Santos Ruiz, A.

(Recibido para publicar el 11 de noviembre de 1965)

La aplicación de la palabra turnover (giro, cambio, vuelta) en sentido bioquímico, surgió de los experimentos de SCHOENHAINER y sus colaboradores en 1949 (8), quienes demostraron el estado dinámico esencial de la mayoría de los constituyentes de los organismos.

Desde entonces son numerosos los equipos de investigación que tratan de comprobarlo, para la mayoría de los elementos, que se van diferenciando en los distintos seres vivos, con el fin de demostrar una verdad que ya había sido entrevista por los filósofos griegos hace miles de años.

La idea central del concepto de turnover, equilibrio dinámico o metabolismo continuo, es la incorporación y liberación por los tejidos del organismo de tal o cual elemento, pero hasta no disponer de las técnicas radioquímicas, empleando los isótopos radiactivos como marcadores, no se puede tener una evidencia de estos hechos.

En los estudios en marcha sobre el turnover del cinc, utilizamos Zn-65, isótopo que por su período de semidesintegración suficientemente largo (245) días, da margen para realizar experiencias a largo plazo.

El Zn-69 con su período de semidesintegración de 13,8 h. puede tener porvenir en terapéutica, como ya lo ha preconizado CZARNICK (4) en el estudio de enfermedades del páncreas y el Zn-72, con período de desintegración de 49 h., lo ha empleado WEKELEY (10) en el estudio de carcinoma de próstata, ya que este órgano parece presentar una selectividad para el cinc análoga a la que presenta el tiroides para el iodo.

Las reacciones de regeneración metabólica, son en general de naturaleza enzimática y el cinc forma parte de numerosos enzimas, cuyas grandes moléculas se degradan, por otros enzimas líticos, para liberar sus fragmentos por excreción. Estos cambios están equilibrados por procesos sintéticos que van unidos a reacciones químicas muy varias. El

(*) De la J.E.N.

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

hecho de ser el cinc un oligoelemento esencial tanto en el hombre como en los animales, hace que el estudio de su turnover sea de gran importancia.

Por otra, el hecho de que el Zn-65 sea un isótopo radiactivo producido en los propios organismos sometidos a una irradiación por neutrones (9) y originando una serie de reacciones nucleares (5), que lo ponen en condiciones de entrar en el ciclo biológico y como consecuencia de las cadenas alimenticias, en el hombre, hace que pueda ser considerado como uno de los posibles contaminantes radioactivos que contribuyen a aumentar en ciertos casos, el valor de la irradiación interna, a que están sometidos los seres vivos. En consecuencia, es de gran interés determinar su *vida media biológica* (período durante el cual el contenido queda reducido a la mitad), para poder deducir la dosis de radiación que recibirá cada una de las partes del organismo y en especial los órganos considerados más sensibles como consecuencia de cualquier contaminación con dicho isótopo.

Las cifras encontradas en la bibliografía respecto al cobaya son muy escasas y los resultados publicados respecto a otros animales principalmente ratas (1), conejos (3) y perros, se refieren a riqueza en Zn-65 de ciertos tejidos, sin especificar el porcentaje total correspondiente a cada órgano, ni la proporción en que se encuentra en cada uno respecto al total existente en el organismo (7), por lo que nos pareció interesante determinar estos valores y consecuentemente la vida media biológica en el total del animal y en las partes y órganos más significativos.

Material y métodos

Se utilizaron lotes de 5 a 10 cobayas, de peso medio aproximado de 500 gr., que exactamente pesados se inocularon por vía intraperitoneal a razón de 60 microcurios de Zn-65 por kilo de peso, según la técnica descrita en trabajos anteriores de esta serie (6), para otros animales. Se mantuvieron en jaulas metabólicas durante períodos de tiempo variable. Se sacrificaron en la fecha prevista, diferenciándose, en el animal, las partes que en las tablas correspondientes se indican y según su tamaño o peculiaridades se digiriricron o incineraron, con el fin de contrastar el camino seguido por la totalidad del Zn-65 inyectado.

La solución de Zn-65 empleada es isotónica y estéril preparada a partir del lote 83604/2 recibido de Amersham (Inglaterra) a través de la J.E.N. con actividad específica de 785 milicurios/g.

Resultados

Con sus respectivas desviaciones típicas se han expuesto en las tablas I y II.

Las figuras 1, 2, 3 y 4 muestran gráficamente las variaciones observadas.

Discusión

Organismo total. — La curva correspondiente a la variación del contenido de cinc en el conjunto total del organismo la hemos iniciado a los seis días de la inoculación intraperitoneal (fig. 1) y en este momento existe un 55 % del inyectado. Dicha curva presenta, en función del tiempo, tres componentes exponenciales distintas, con vidas medias biológicas crecientes, ya que si bien el 50 % del cinc inyectado es excretado por heces y orina, principalmente por las primeras, durante los 15 primeros días, se deduce la existencia posterior de un período que se prolonga hasta los 65 días, durante el cual, el tiempo que tarda en reducirse a la mitad el contenido de cinc, es de 20 días y a partir de aquella fecha la vida media biológica parece ser de 80 días aproximadamente.

TABLA I

Partes diferenciadas	PORCENTAJE DE LA CANTIDAD INYECTADA						
	A los 6 días de inyectar	A los 15 días	A los 27 días	A los 45 días	A los 60 días	A los 80 días	A los 140 días
Organismo total	35,33 ± 1,42	50,32 ± 1,90	39,86 ± 0,80	24,53 ± 0,96	11,90 ± 0,73	9,13 ± 0,9	5,71 ± 0,5
Vísceras	17,28 ± 0,55	8,05 ± 0,28	3,94 ± 0,15	2,26 ± 0,20	0,934 ± 0,0085	0,57 ± 0,06	0,20 ± 0,03
Carcasa	28,72 ± 0,32	32,08 ± 1,42	22,86 ± 0,57	13,20 ± 0,60	6,42 ± 0,51	5,23 ± 0,48	2,21 ± 0,25
Piel + Pelo	8,62 ± 0,64	8,42 ± 0,62	10,39 ± 0,60	7,53 ± 0,29	3,95 ± 0,31	2,98 ± 0,31	2,95 ± 0,31
Sistema nervioso central	0,109 ± 0,047	0,203 ± 0,018	0,180 ± 0,024	0,101 ± 0,014	0,053 ± 0,006	0,02 ± 0,008	0,02 ± 0,004
Ojos	0,032 ± 0,003	0,073 ± 0,011	0,016 ± 0,003	0,013 ± 0,002	0,0044 ± 0,0004		0,0024 ± 0,004
Uñas	0,056 ± 0,009	0,077 ± 0,010	0,081 ± 0,007	0,079 ± 0,006	0,036 ± 0,005	0,032 ± 0,04	0,025 ± 0,003
Dientes	0,501 ± 0,090	2,09 ± 0,11	2,18 ± 0,47	1,19 ± 0,14	0,505 ± 0,039	0,31 ± 0,03	0,26 ± 0,03

TABLA II

Organo	PORCENTAJE DE LA CANTIDAD INYECTADA						
	A los 6 días de inyectar	A los 15 días	A los 27 días	A los 45 días	A los 60 días	A los 80 días	A los 140 días
Páncreas	0,364 ± 0,066	0,249 ± 0,045	0,063 ± 0,006	0,049 ± 0,005	0,022 ± 0,004	0,016 ± 0,003	0,005 ± 0,0008
Hígado	5,65 ± 0,11	3,06 ± 0,10	1,38 ± 0,07	0,650 ± 0,051	0,244 ± 0,023	0,10 ± 0,01	0,045 ± 0,005
Bazo	0,120 ± 0,011	0,086 ± 0,010	0,037 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,0082 ± 0,0012		
Estómago	0,816 ± 0,103	0,254 ± 0,021	0,146 ± 0,016	0,077 ± 0,0008	0,037 ± 0,0011		
Intestino	5,42 ± 0,40	1,77 ± 0,14	0,92 ± 0,06	0,439 ± 0,054	0,193 ± 0,083		
Riñón + Supr.	1,70 ± 0,24	0,723 ± 0,050	0,452 ± 0,025	0,254 ± 0,028	0,172 ± 0,039		
Genital	1,35 ± 0,11	1,04 ± 0,06	0,451 ± 0,034	0,306 ± 0,045	0,171 ± 0,020	0,05 ± 0,007	0,023 ± 0,003
Pulmón	0,520 ± 0,018	0,344 ± 0,030	0,148 ± 0,012	0,088 ± 0,009	0,028 ± 0,003		
Corazón	0,322 ± 0,038	0,205 ± 0,024	0,107 ± 0,008	0,050 ± 0,005	0,029 ± 0,004		

Carcasa. — (Fig. 1). Hay un incremento hasta los 17-18 días en que se alcanza el máximo con un 33 % aproximadamente de la cantidad inyectada. A partir de dicha fecha disminuye el contenido siguiendo una ley exponencial, que presenta dos períodos biológicos distintos, el primero comprendido entre los 17-18 días y los 65 días aproximadamente, con una vida media biológica de 19-20 días y otro a partir de dicha fecha, con una vida media biológica de unos 60 días. El incremento y caída rápida de la curva estaría más bien influenciada por el metabolismo del cinc en el sistema óseo que es más lento (2).

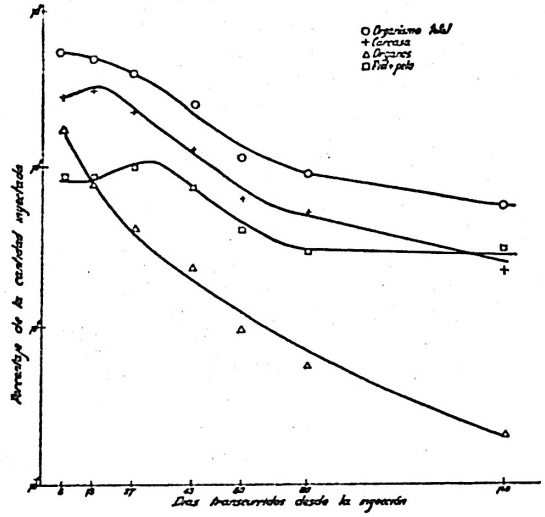

FIG. 1. Variación del contenido en cinc en el total del organismo, carcasa, conjunto de órganos y piel con pelo en función del tiempo transcurrido desde la inyección intraperitoneal.

Organos. — La gráfica correspondiente al conjunto de órganos torácicos y abdominales (fig. 1) presenta las características de una exponencial compuesta. Esto es lógico dada la diversidad de los elementos que la constituyen. Ahora bien, en la figura 2 hemos representado las curvas de variación del cinc, en función del tiempo, para cada uno de los órganos abdominales, que hemos considerado más significativos y en la fig. 4 los órganos torácicos más importantes: corazón y pulmón y en conjunto podemos observar la existencia de ciertos paralelismos en las vidas medias biológicas de aquellos que presentan funciones más afines o complementarias; hígado, páncreas y bazo; estómago e intestino; corazón y pulmón.

Analizando las características de la función exponencial correspondiente al decrecimiento de contenido de cinc de dichos órganos a partir del día 6, y teniendo en cuenta que el máximo contenido en los mismos se presenta dentro de las primeras 24 horas, por tratarse de órganos de asimilación y desasimilación rápida (6), se deduce:

Hígado. — Entre los 6 y los 8 días (figura 2) el contenido del cinc en el mismo disminuye uniformemente a partir de 5,6 %. La ley que sigue durante este período, obtenida por el método de los mínimos cuadrados es:

$$y = 6{,}852 \cdot e^{-0{,}0386t}$$

De ella podemos deducir el contenido de cinc para un determinado momento.

Teniendo en cuenta que la vida media biológica es igual a $\frac{l_2}{x}$, siendo x el exponente de la función anterior, se ha determinado que en el hígado, el valor de ésta, en el período 6-80, es de 12,9 días.

A partir de los 80 parece presentarse una marcada variación con una vida media biológica de 52 días aproximadamente.

Páncreas. — Para el período de tiempo comprendido entre los 6 y los 60 días (figura 2), con valores de 0,36 % y 0,02 % respectivamente del cinc inyectado, muestra una vida media biológica de 13 días y a partir de dichos 60 días y en el tiempo estudiado por nosotros,

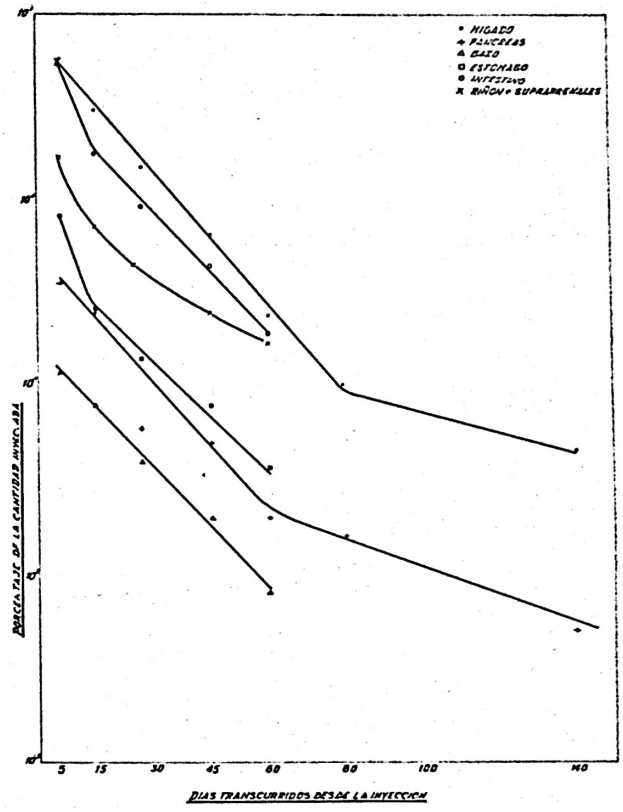

FIG. 2. Variación del contenido de cinc en páncreas, hígado, estómago, intestino, bazo y riñones con las cápsulas suprarrenales, en función del tiempo transcurrido desde la inyección intraperitoneal.

la vida media biológica aumenta hasta 40 días.

Bazo. — Para el período en que tenemos datos (figura 2) que se halla comprendido entre los 6 y los 60 días, durante los cuales el porcentaje de cinc contenido en esta víscera ha pasado del 0,12 al 0,008, presenta una vida media biológica de 13,5 días.

Estómago. — El contenido de cinc en el estómago a los seis días de su inyección (figura 2) presenta un valor de 0,28 % y hasta el día 15 disminuye rápidamente con una vida media biológica de 6 días. A partir de los 15 días y hasta los 60 días, la vida media biológica es de 15 días.

Intestino. — En este órgano (figura 2) se manifiesta algo muy semejante al estómago. Desde el día 6.°, que presenta un contenido de cinc igual al 5,4 % del inyectado, hasta el día 15 muestra una vida media biológica de 5 días aproximadamente y desde el día 15 hasta el 60, la función representativa del decrecimiento del cinc en dicho órgano es:

$$y = 1{,}612 \cdot e^{-0{,}4814t}$$

por lo que su vida media biológica en dicho período es de 14,4 días.

Por los valores obtenidos podemos deducir que estómago e intestino presentan vidas medias biológicas análogas,

con valores iguales a 5-6 días y 14-15 días respectivamente, para cada uno de los períodos determinados.

Riñón y cápsulas suprarrenales. — La curva correspondiente a las variaciones en estos órganos (figura 2) no presenta una forma tan simple como las anteriores, lo cual puede ser explicado fácilmente por la dualidad de funciones de ambos, ello ha hecho que no prestemos excesiva atención a la determinación de su vida media biológica.

Aparato genital. — En la gráfica correspondiente al aparato genital (figura 3) vemos que a partir de los 6 días, en que el contenido de cinc, en el total del aparato masculino, es del 1,38 % del inyectado, éste disminuye uniformemente hasta el día 80, aproximadamente, siguiendo la función:

$$y = 1{,}806 \cdot e^{-0{,}0427t}$$

que nos permita determinar la concentración de cinc en un momento dado y de la que se ha deducido que su vida media biológica es 12,6 días.

A partir de los 80 días y con los datos de que disponemos no es posible deducir una conclusión definitiva, si bien la gráfica nos muestra una marcada declinación.

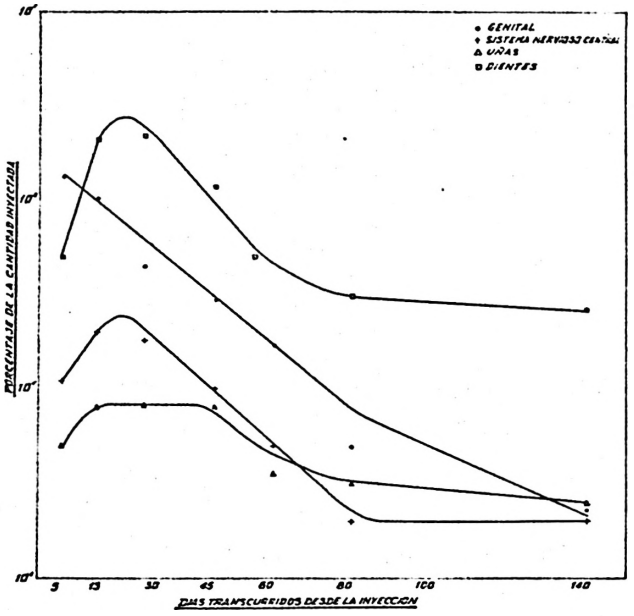

FIG. 3. Variación del contenido de cinc en el aparato genital masculino, sistema nervioso central, uñas y dientes en función del tiempo transcurrido desde la inyección intraperitoneal.

Sistema nervioso central. — En la figura 3 se halla representada la variación que experimenta el contenido de cinc en el conjunto del sistema nervioso central, en función del tiempo transcurrido desde la inyección. Por ello vemos cómo va produciéndose en el mismo una marcada acumulación hasta los 20-22 días, fecha en que por la forma de la curva se deduce que alcanza el máximo, con un valor aproximado de 0,24 % de la cantidad inyectada, a partir de este momento, se inicia el período de decrecimiento, que dura hasta los 60 días aproximadamente, durante el cual la

vida media biológica es de 16 días. Desde los 16 días parece que se ve claramente una estabilización del contenido de cinc inyectado, correspondiente a un valor del orden del 0,02 %, en estas condiciones, por lo que podemos considerar a dicho sistema, de acuerdo con otros trabajos realizados en nuestro laboratorio, como órgano acumulativo.

Dientes. — En el conjunto de dientes y muelas, como puede observarse en la gráfica correspondiente de la fig. 3 se

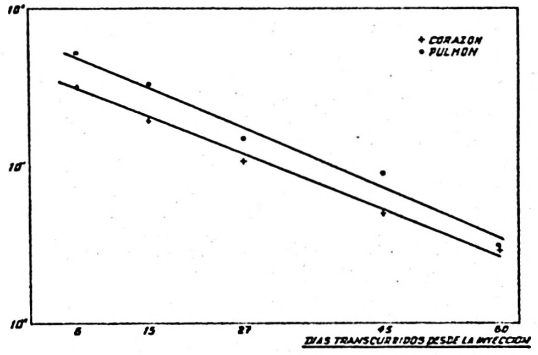

FIG. 4. Contenido de Zn-65.

observan unos procesos de acumulación y pérdida muy semejantes a los del sistema nervioso central. Se presenta un aumento del contenido de cinc que eleva su valor desde el 0,6 % en el sexto día hasta el 2,1 % el quinceavo día, para alcanzar un máximo que por la forma de la curva puede fijarse aproximadamente entre los días 20 y 22, con un valor del 2,5 y 2,6 % de la dosis inyectada. A partir de este momento y hasta el día 65 aproximadamente, hay un decrecimiento rápido con una vida media biológica de 13 días y, posteriormente, disminuye en forma mucho más lenta, con una vida media biológica que podría hallarse alrededor de los 160 días.

Por cierta analogía que existe entre esta curva y la del sistema nervioso central podríamos pensar que la parte medular y nerviosa de los dientes es la responsable de la acumulación y decrecimiento rápido, importante desde el punto de vista cuantitativo y que la parte que se fija al tejido dentario propiamente dicho, es la responsable de la última fase de la gráfica.

Piel y pelos. — En la figura 1 se han presentado los valores que corresponden al contenido de cinc en el conjunto de piel y pelo. Por ellos vemos que el proceso que podríamos llamar acumulativo se prolonga hasta los 33-35 días posteriores a la inyección, fecha en que se alcanza un máximo que corresponde al 10 %, aproximadamente, de la cantidad inyectada. Desde esta fecha hasta los 75 días aproximadamente, hay una caída más rápida que la acumulación, con vida media biológica de 18 días y a continuación y por un período, que nosotros solamente podemos indicar por los datos obtenidos hasta los 140 días, la pérdida de cinc en este conjunto es muy lenta, permaneciendo prácticamente constante el contenido del mismo.

Uñas. — Por la representación gráfica expuesta en la fig. 3, vemos que el contenido del cinc en las uñas presenta, en el período comprendido entre los 6 y los 60 días, ramas muy análogas de aumento y decrecimiento, y un período de 30 días, el comprendido entre los 15 y los 45 días posteriores a la inyección, durante el cual dicho contenido permanece constante en un 0,08 % del total inyectado. A partir de los 60 días el decrecimiento es mucho más lento, con una vida media biológica del orden de los 150 días.

Pulmón y corazón. — De los órganos torácicos seleccionamos: corazón y pulmón (fig. 4). Vemos que las líneas representativas entre los 6 y los 60 días, son rectas paralelas, por tanto, la función exponencial tendrá una sola componente y la cantidad de cinc para este período puede calcularse por la fórmula:

$$y = 0{,}7519 \cdot e^{-0{,}06901t}$$

La vida media biológica deducida de

ellas nos da un valor de 10,04 días para ambos órganos.

Resumen

Utilizado el Zn-65 como trazador se ha estudiado la vida media biológica del cinc en el total del cobaya y en las partes y órganos más significativos del mismo.

Para ello se ha inoculado, por vía intraperitoneal, Zn-65 y se ha determinado el porcentaje de la dosis inyectada existente en el momento del sacrificio, en cada período y en cada una de las partes seleccionadas. Estas fueron : carcasa, piel, pelo, uñas, vísceras y en particular los órganos considerados como más siginificativos, tales como páncreas, hígado, genitales, bazo, pulmón, corazón, estómago, intestino, riñones, ojos, cerebro y dientes.

En todos los casos estudiados en que la representación gráfica, en escala semilogarítmica, resulta una línea recta para un determinado período, hemos hallado, por el método de los mínimos cuadrados, la función exponencial que nos da el contenido de cinc en cada momento en función del tiempo. A partir del exponente de dicha función se ha calculado la vida media biológica de los órganos más significativos.

Summary

Metabolic studies of zinc VII. Biological half-life of zinc in the guinea pig.

In order to determine the turnover of zinc in the guinea pig, we have studied in this work a way of finding the biological half-life of Zn-65 in the total of the animal and in the most significant organs of the same, which were, for the moment: pancreas, liver, genitals, kidneys, spleen, lung, heart, stomach, intestines, eyes, brain and teeth. To this end we have inoculated series of from 5 to 10 guinea pigs, intraperitoneally, with an isotonic, free from pirogenous, and sterile solution of Cl_2 Zn-65, at a rate of 60 microcurie/kg of weight in one sole dose. The animals being killed at the foreseen time. The above-mentioned parts were separated and, according to their characteristics, they were first incinerated or directly digested, an aliquot part of the resultant solution being registered on a scintillation counter. We determined the standard deviation of the average values given in Tables I and II.

With the values obtained, curves were traced in a semi-logarithmics scale. In all the periods studied, of which the graphic representation is a straight line, we have found, by the method of the squares themselves, the exponential function as a starting point, we have been able to make an exact calculation of the biological half-life of the most significant organs, and for the differentiated periods.

Bibliografía

(1) BALLOU, J. E. : *Hanford Biol. Res. Annual Report HW* **65500**, 99, 1960.

(2) BEGUE, M. L., GALARZA, A. M., GARCÍA DEL AMO, C. y A. SANTOS RUIZ : *Actas IX Reunión Soc. Esp. C. Fisiol.* (En prensa.)

(3) COTZIAS, G. C., BERG, D. C. and SELLECK, B. : *Amer. J. Physiol.*, **201**, 63, 1961.

(4) CZERNIAK, P., NAHARIN, A. and ALEXANDER, H. : *Inter. J. App. Rad. Isotp.*, **13**, 547, 1962.

(5) REDISKE, J. H. and HUNGATE, E. P. : Proc. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Ginebra, 1955. V. **13**, p. 354, 1956.

(6) RIBAS, B., PIRE, I., GARCÍA DEL AMO, C. y SANTOS RUIZ, A. : *R. esp. Fisiol.*, **19**, 95, 1963.

(7) RICHMOND, C. y FUCHER, J. E. : *Health Physics*, **8**, 481, 1962.

(8) SCHOENHEIMER : The Dynamic state of Bory Constituents. Cambridge (Mass.) Harvard Univ. Press, 1946.

(9) VAN DILLA, M. A. and ENGELK, M. J. : Science, **131**, 830, 1960.

(10) WEKELEY, J. C. N., MOFFAT, B., CROOT, A. and MALLARD, J. R. : *Inter. J. App. Rad. Isotop*, **7**, 225, 1960.