

Laboratorio de Fisiología Animal  
Facultad de Farmacia  
Granada  
(Prof. G. Varela)

## Influencia de la acción quelante del citrato sódico sobre el metabolismo del calcio en ratas <sup>(1)</sup> \*

por

A. Murillo \*\* y G. Varela

(Recibido para publicar el 2 de julio de 1968)

Desde hace varios años nos venimos ocupando en nuestro Laboratorio de algunos problemas nutritivos del aprovechamiento del calcio alimenticio.

Como es sabido, la mucosa intestinal solamente absorbe calcio de compuestos solubles y no todo el calcio del alimento llega al intestino en estas condiciones.

Uno de los problemas que desde hace tiempo ha venido ocupando a los investigadores ha sido la disminución en el rendimiento del calcio de las dietas, debido a su precipitación o inmovilización por diversos agentes, y entre éstos han sido muy estudiados fosfatos, fitatos y oxalatos.

Por otra parte, existe una serie de compuestos con una gran afinidad por el calcio, agentes quelantes que no sólo dan complejos solubles con el calcio, sino que los rescatan de compuestos muy insolubles, incluidos oxalato y fitato.

La tecnología de alimentos, la medicina y, por tanto la industria farmacéutica, están haciendo cada día más amplio el uso de estos compuestos, y pensamos que sería interesante estudiar su actuación digestiva.

En experiencias ya publicadas (7, 8) habíamos demostrado cuál era la influencia del oxalato y de la complexona más utilizada, el EDTA (ácido etilendiaminotetracético, sal disódica). El oxalato hace descender notablemente el calcio absorbido, y el descenso es proporcional al nivel de oxalato en la dieta. La adición de EDTA evita, en parte, las pérdidas debidas al oxalato. También pudimos comprobar que cuando no hay oxalato en la dieta la adición de EDTA no se traduce en cambios de la digestibilidad, lo que indica que el mecanismo de acción es la solubilización del calcio precipitado por el oxalato.

---

(1) Este trabajo ha sido presentado al VIII Congreso Internacional de la Sociedad Farmacéutica del Mediterráneo Latino, celebrado en Granada (España) del 16 al 18 de mayo de 1968.

\* Realizado dentro del programa de Ayuda a la Investigación que disfruta este Laboratorio.

\*\* Con una Beca de Investigación del P.I.O.

Pero, aparte de los compuestos de síntesis, cuya influencia sobre el metabolismo de algunos cationes divalentes ha sido objeto de un muy completo estudio por NIELSEN (5), otras muchas sustancias naturales, como aminoácidos, algunos azúcares, etc., muestran *in vivo* un efecto solubilizador del calcio. De estas sustancias naturales nos hemos ocupado del anión citrato.

El hecho de que sea difícil producir raquitismo en las ratas si la dieta contiene 10-15 % de citrato (2) y el efecto curativo del mismo sobre el raquitismo en niños (6) son de antiguo conocidos. El ácido cítrico se ha probado como favorecedor de la absorción de calcio en dietas ricas en cereales y su acción sobre dietas pobres en calcio se manifiesta, según DE LANGE (3) por una elevación del 83,4 a 89,4 en la utilización neta de dicho metal.

DUPUIS y col. (1) han probado el efecto de varios zumos de fruta aumentando la absorción de calcio, muy manifiesto sobre todo para el zumo de manzana, y sugieren que el principio activo puede ser un ácido como el cítrico o el málico.

El mecanismo de acción del ácido cítrico no está claro, pero parece muy relacionado con la formación de complejos solubles de calcio, ya que la inyección de elevadas dosis de citrato no tiene efecto sobre la absorción de calcio (4).

### Material y métodos

Las experiencias se han llevado a cabo en una cámara especialmente adecuada para este tipo de estudios, termorregulada a  $21 \pm 2^\circ \text{C}$ , convenientemente ventilada y en la que la presencia de polvo ha sido cuidadosamente evitada.

La duración de cada experiencia es de 10 días, 3 de adaptación del animal al alimento y 7 de control alimentario y fecal. Entre cada dos experiencias los animales gozan de un período de 3 días durante el cual ingieren la dieta standard

del criadero del laboratorio, cuyo aporte suficiente de calcio contrarresta cualquier posible deficiencia adquirida. Esta duración de 10 días se ha mantenido incluso en las experiencias para cálculo de calcio endógeno, ya que, aunque un período tan dilatado con ingesta nula de calcio puede llevar a un estado de deficiencia de calcio, la noticia bibliográfica sobre los cambios en los valores del endógeno a través del tiempo nos ha obligado a uniformar la duración de las experiencias.

Los animales de experimentación han sido ratas adultas de raza Nestlé, de la cepa del laboratorio, tipificada a través de más de 100 generaciones. Cada experiencia se ha desarrollado con 10 ratas, de un peso medio aproximado de 165 g.

Hemos utilizado jaulas individuales del modelo de plástico propuesto por K. SCHILLER para determinaciones de balance metabólico, adaptadas en sus dimensiones a ratas adultas. Estas jaulas, con comedero y bebedero externos, y un sistema original de separación de orina y heces, aseguran un perfecto control de ingesta y una adecuada recogida de excretas.

El control de peso se hace por pesada de cada rata al comienzo y al final del período principal de 7 días. La pesada se hace con la rata en ayunas de 6 horas.

La dieta fundamental empleada, con contenido casi nulo en calcio, ha sido preparada con una proteína comercial de cacahuete privada de calcio y de glúcidos, como fuente nitrogenada; la fibra es polvo de celulosa; los glúcidos son almidón de trigo y azúcar de caña, a partes iguales, y la grasa es aceite de oliva virgen. La dieta contiene un 12 % de proteína, 4 % de grasa, 8 % de fibra, los correspondientes correctores mineral y vitamínico y almidón y azúcar hasta 100. A esta dieta se añade o no oxalato sódico, citrato sódico y carbonato cálcico, según se indicará.

En conjunto hemos realizado seis experiencias con lotes de 10 animales, tres

para determinar los valores de calcio urinario y fecal de origen endógeno y tres para conocer los coeficientes de digestibilidad aparente (C.D.A) y verdadero (C.D.V), el valor biológico (V.B., porcentaje de calcio retenido, del absorbido) y el coeficiente de utilización neta de calcio (CUN Ca, porcentaje de calcio retenido, del ingerido).

Se resume en las tablas I, II y III.

### Resultados

Se resume en las tablas I, II y III.

TABLA I

Valor nutritivo del calcio  
Dieta fundamental (sin calcio, oxalato, ni citrato) + CO<sub>3</sub>Ca al 1 %

Rata	Peso medio g	Ingesta g	Ca ingerido mg	mg Ca absorbido		Ca ingerido mg	C.D.A.	C.D.V.	V.B.	CUN Ca
				Aparente	Verdadero					
1 ♂	160	69,9	279	170	178	172	60,9	63,8	96,6	
2 ♂	169	70,8	283	163	174	168	57,6	61,5	96,5	
3 ♂	171	69,9	279	205	214	211	73,5	76,7	98,5	
4 ♂	171	66,2	265	73	82	74	27,5	30,9	90,2	
5 ♂	168	68,0	272	148	156	147	54,4	57,3	99,3	
6 ♀	176	82,9	331	209	222	209	63,1	67,1	94,1	
8 ♀	184	91,3	365	244	260	260	66,8	71,2	99,9	
9 ♀	188	90,4	361	233	241	241	64,5	66,8	100,0	
10 ♀	192	91,3	365	208	219	219	57,0	60,0	100,0	
MEDIAS							58,3	61,7	97,3	60,0

TABLA II

Influencia del oxalato sódico sobre el valor nutritivo del calcio  
Dieta fundamental + CO<sub>3</sub>Ca 1 % + oxalato sódico 1,34 %

Rata	Peso medio g	Ingesta g	Ca ingerido mg	mg Ca absorbido		C.D.A.	C.D.V.	V.B.	CUN Ca
				Aparente	Verdadero				
11 ♂	163	76,3	305	134	143	43,9	46,7	100,0	
12 ♂	173	74,4	298	114	126	38,1	42,4	100,0	
13 ♂	175	71,6	286	106	116	37,1	40,5	100,0	
14 ♂	176	80,9	324	115	127	35,7	39,4	100,0	
15 ♂	173	76,3	305	111	120	35,2	39,4	100,0	
16 ♀	191	82,8	331	128	141	38,7	42,6	100,0	
17 ♀	202	93,0	372	141	150	37,9	40,4	100,0	
18 ♀	203	89,3	357	186	202	52,1	56,6	100,0	
19 ♀	206	93,0	372	137	146	36,8	39,1	100,0	
20 ♀	207	92,1	368	140	151	38,1	41,1	100,0	
MEDIAS						37,9	41,4	100,0	41,4

No se indican los mg de Ca retenido porque las pérdidas urinarias de Ca son inferiores a la eliminación por orina de calcio endógeno, determinada previamente, y en estas circunstancias admitimos que el V.B. es 100.

TABLA III

Influencia del oxalato sódico y del citrato sódico sobre el valor nutritivo del calcio  
Dieta fundamental + CO<sub>2</sub>Ca al 1 % + oxalato sódico 1,34 % + citrato sódico 2,9 %

Rata	Peso medio g	Ingesta g	Ca ingerido mg	mg Ca absorbido		Ca retenido mg	C.D.A.	C.D.V.	V.B.	CUN Ca
				Aparente	Verdadero					
21 ♂	155	67,1	268	143	149	137	53,1	55,5	91,9	
22 ♂	155	62,4	250	112	117	116	44,9	46,8	99,1	
23 ♂	172	70,8	283	144	149	144	50,9	52,6	96,6	
24 ♂	155	66,2	265	129	138	115	48,8	52,1	83,3	
25 ♂	157	57,8	231	88	94	94	38,1	40,6	100,0	
26 ♀	186	91,3	365	182	189	179	49,9	51,7	94,7	
27 ♀	180	91,3	365	181	187	170	49,5	51,2	90,9	
28 ♀	169	84,8	337	138	144	137	41,1	42,7	95,1	
29 ♀	172	82,9	332	133	139	127	40,1	41,9	91,4	
MEDIAS							46,2	48,4	93,6	45,3

### Discusión

Se observa que la presencia de oxalato en la dieta origina un notable descenso de la eficacia de absorción de calcio, lo que está de acuerdo con los resultados de experiencias ya publicadas por nosotros sobre este mismo tema (7 y 8).

Como vemos, la adición de citrato a la dieta se traduce en un aumento de la digestibilidad del calcio, lo que indica que este quelante natural actúa en el mismo sentido que el EDTA y aunque probablemente su efecto cuantitativo es menor, el citrato carece de muchos peligrosos efectos del EDTA.

En cuanto al valor biológico (V.B.), los resultados creemos que pueden ser interesantes. El valor normal para la dieta empleada es de 97,5, pero cuando la adición de oxalato disminuye el aporte de calcio, el animal disminuye las pérdidas urinarias y el V.B. se hace 100 % y en realidad superior, ya que no sólo se retiene todo el calcio absorbido, sino que disminuye la eliminación urinaria de calcio endógeno. Cuando el citrato aumenta el aporte de calcio el V.B. desciende

de nuevo, aunque hay que pensar que este efecto es debido a que el citrato favorece la eliminación de calcio por la orina.

En cuanto a la eliminación renal de este catión, hemos comprobado que el oxalato la disminuye, probablemente por su acción hipocalcémica. Por otro lado, según hemos comentado ya, el citrato sódico aumenta la calciuria, tal vez por aumentar el proceso físico de filtración renal o quizás por interacción con el componente activo de reabsorción tubular. Pero no nos atrevemos a una interpretación definitiva hasta que no queden aclaradas las relaciones entre paratorhormona, citrato y metabolismo del calcio.

### Resumen y conclusiones

Se estudia en ratas la influencia del oxalato sódico y del citrato sódico añadidos a la dieta, sobre el metabolismo del calcio.

En las experiencias de balance de calcio, según la técnica de Thomas-Mitchell, se emplean lotes de 10 ratas adultas, instaladas en células individuales de metabolismo que permiten el control y recogida de ingesta, orina y heces. La duración de cada experiencia es

de 10 días, tres de adaptación del animal al alimento y siete de control alimentario, fecal y urinario.

Por análisis de calcio en la dieta y en las excretas se determina el coeficiente de digestibilidad aparente y verdadero, el valor biológico y la utilización neta de calcio. Igualmente se ha determinado el valor de eliminación fecal y urinaria de calcio de origen endógeno, individualmente para cada uno de los animales que componen cada lote, utilizando una dieta sintética sin calcio.

De nuestras experiencias se concluye: El oxalato sódico disminuye el coeficiente de digestibilidad aparente y verdadero de calcio. Esta misma sal aumenta la retención del calcio absorbido. También este compuesto parece disminuir la eliminación urinaria de calcio de origen endógeno.

El citrato sódico aumenta la digestibilidad del calcio cuando ésta está disminuida por la presencia de oxalato sódico en la dieta. La retención del calcio absorbido es disminuida por la acción del citrato sódico.

### Summary

#### Influence of the Chelate Action of the Sodium Citrate on the Calcium Metabolism in Rats

A study is made in rats of the influence of the addition of sodium oxalate and of sodium citrate to the diet on the metabolism of calcium.

In the calcium balance experiments, using the method of Thomas-Mitchell, lots of 10 adult rats were employed, in individual metabolism cages which allowed the control and collection of ingesta, urine and faeces. Each experiment lasted ten days, three to adapt the animal and

seven to control ingesta, faeces and urine.

The apparent and true digestibility coefficient, biological value and net available calcium were determined by analysis of calcium in the diet and excreta.

Determination fecal and urine elimination of endogenous calcium was carried out individually for each of the animals comprising each lot, using a synthetic diet without calcium.

Our experiments lead to the following conclusions:

Sodium oxalate decreases the apparent and true digestibility coefficient of calcium. It increases the retention of calcium absorbed. It also appears to decrease the urine elimination of endogenous calcium.

Sodium citrate increases the digestibility of calcium, when this is decreased by the presence of sodium oxalate in the diet. The retention of calcium absorbed is decreased by the action of sodium citrate.

### Bibliografía

1. DUPUIS, Y., BRUN, P. y FOURNIER, P.: *Bull. Soc. Sci. Hyg. aliment.*, 51, 293, 1963.
2. HALMITON, B. y DEWAR, M. M.: *Amer. J. Diseases Children.*, 54, 548, 1937.
3. DE LANGE, D. J.: *Proc. Nutr. Soc. Southern Africa*, 2, 76, 1961.
4. NICOLAYSEN, R. y NORDB, R.: *Acta physiol. Scand.*, 5, 212, 1943.
5. NIELSEN, F. H., SUNDE, M. L. y HOEKSTRA, W. G.: *J. Nutrition*, 89, 35, 1966.
6. SHOHL, A. T. y BUTLER, A. M.: *New Engl. J. Med.*, 220, 515, 1939.
7. VARELA, G. y MURILLO, A.: *Proc. Nutr. Soc.*, 25, 27, 1966.
8. VARELA, G. y MURILLO, A.: *Anal. Bromatol.*, 19, 91, 1967.

