

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

Eliminación fecal de calcio endógeno en ratas gestantes *

por

A. Murillo ** y G. Varela

(Recibido para publicar el 2 de septiembre de 1968)

En anteriores trabajos nos hemos ocupado de la eliminación fecal endógena de calcio en ratas normales (6, 7). Según es sabido, para conocer el componente endógeno de un nutriente es necesario someter a los animales a una dieta carente en el mismo y en estas circunstancias la determinación en heces del nutriente debe indicar su pérdida fecal de origen endógeno. Este dato es de primer interés para conocer el coeficiente de digestibilidad verdadero del nutriente y el balance real del mismo.

En el caso del calcio, como se ha visto en anteriores trabajos, existe una dificultad manifiesta en la determinación de la cantidad de calcio realmente absorbido, ya que el endógeno ofrece grandes variaciones (1, 2, 5, 8). Por ello son muy escasos los trabajos hechos sobre digestibilidad verdadera en este catión.

En nuestras experiencias se trataba de profundizar en este problema viendo de qué manera el calcio fecal endógeno dependía de dos factores a tener en cuenta: por un lado la secreción de calcio proce-

dente de la sangre por la pared intestinal (3) y por otro la reabsorción del mismo en su discurrir digestivo. Por tanto, el calcio fecal endógeno es el resultante de la diferencia entre el segregado y el reabsorbido.

Si se da a un animal una dieta carente de calcio a la que se añade oxalato sódico precipitará el calcio segregado por la pared intestinal y, por tanto, aumentará el calcio fecal. Esto es lo que se ha comprobado en nuestras experiencias.

La gestación supone una circunstancia especial de movilización de los diferentes nutrientes, entre ellos el calcio. Por ello, ha parecido de interés conocer la eliminación fecal endógena de calcio en ratas en comparación con las no gestantes. Se ha seguido la línea ya indicada para conocer el calcio fecal total endógeno y se estudia

* Este trabajo ha sido realizado dentro del Programa de Ayuda a la Investigación que disfruta este Laboratorio.

** Beneficiario de una Beca de Investigación del P. I. O.

TABLA I
Plan de experiencias

Período	Días	Tipo de dieta	
		Lote A	Lote B
a) Con ratas gestantes	(15) *	Lote A	Lote B
Apareamiento	1-2	Standard	Standard
Adaptación	3-4	Básica	Básica + Oxal-Na ⁺⁺
1.º período control	5-9	Básica	Básica + Oxal-Na
Reposo	10-11	Standard	Standard
Adaptación	12-13	Básica	Básica + Oxal-Na
2.º período control	14-18	Básica	Básica + Oxal-Na
b) Con ratas no gestantes	(10)	Lote C	Lote D
Adaptación	1-3	Básica	Básica + Oxal-Na
Período control	4-10	Básica	Básica + Oxal-Na

* Parto: Se controla el número de hijos de las ratas que quedaron preñadas (11 en el lote A y 10 en el lote B).

** La cantidad de oxalato sódico (Oxal-Na) adicionado a la dieta básica es en todas las experiencias del 0,56 %.

de qué manera la presencia de oxalato aumentaría estos valores, lo que supondría un descenso del calcio disponible por los animales como consecuencia de la precipitación en el intestino del calcio que, una vez segregado, no es reabsorbido como ocurre normalmente.

Interesó conocer estos fenómenos en dos períodos distintos de la gestación, uno al comienzo de la misma y otro al final, ya que en ambas las circunstancias de movilización y destino de dicho catión son diferentes.

Con este objeto se ha programado una serie de seis experiencias, utilizando en cada una de ellas una media de diez animales. Cuatro de los lotes estaban formados por animales gestantes y los otros dos, que nos sirven de testigo, compuestos de ratas no gestantes.

Todos los animales consumen una dieta carente de calcio a la que se añade o no oxalato sódico.

Material y métodos

Las experiencias se han realizado con arreglo a la cronología que especificamos

en la tabla I, junto con las dietas utilizadas en cada fase.

La dieta básica con aporte casi nulo de calcio y sin oxalato, tiene la siguiente composición porcentual en sustancia seca: Hígado, 16,7; Grasa, 2,1; Fibra, 8,0; Azúcar, 31,6; Almidón, 31,6; Corrector mineral, 5,0; Corrector vitamínico, 5,0.

Empleamos hígado de vacuno cocido y lavado con agua destilada para privarlo de su ya bajo contenido en calcio (4). La grasa es aceite de oliva virgen. La fibra es polvo de celulosa. La composición de los correctores vitamínicos y minerales puede encontrarse en trabajos anteriores. Con esta composición la dieta queda ajustada al 12 % de proteína, 4 % de grasa y 8 % de fibra.

Durante toda la experiencia las ratas permanecen en una habitación termorregulada a $21 \pm 2^\circ \text{C}$, incluidas en células metabólicas individuales de plástico, con comedero y bebedero externos y un sistema muy perfeccionado que permite la separación y recogida de las excretas.

La duración de cada período experimental es de cinco días para las ratas gestantes y siete para las no gestantes. Pre-

TABLA II

Efecto de la adición de oxalato sódico (Oxal-Na) al 0,56 % en la dieta, sobre la eliminación fecal de calcio endógeno en ratas gestantes y no gestantes

Lote *	Núm. animales	Dieta	Ca fecal endógeno mg/g
A-1.º	11	Básica	0,465
A-2.º	11	Básica	0,271
B-1.º	10	Básica + Oxal-Na	0,942
B-2.º	10	Básica + Oxal-Na	0,715
C	10	Básica	0,117
D	10	Básica + Oxal-Na	0,552

* Las experiencias corresponden al período control, de acuerdo con el plan de la tabla I.

viamente al período principal de control de ingesta y excretas se realiza un período de adaptación del animal al alimento que se va a ensayar.

Aproximadamente a la mitad de la gestación, entre los dos períodos experimentales, las ratas toman dos días de reposo, en los cuales un elevado aporte de calcio es asegurado con la dieta standard, un pienso compuesto comercial para gallinas ponedoras que es el habitualmente utilizado en nuestro criadero.

Los análisis de calcio se realizan por una técnica complexométrica, empleando EDTA (ácido etilendiaminotetracético, sal sódica). Las muestras se incineran a 600° y las cenizas se disuelven en ácido clorhídrico diluido y se filtran. El filtrado se hace pasar a través de una columna de resinas cambiadoras (Zerolit 225 H form) que retienen el calcio y dejan pasar los aniones, entre ellos los fosfatos, que interfieren la valoración final. El calcio retenido en las resinas se eluye con ClH 5 N y el eluido se evapora a sequedad. El residuo seco se disuelve en agua destilada, se alcaliniza con KOH 4 % hasta pH 13 y se valora con solución de EDTA 0,01 M, ante murexida.

Resultados

Se resumen en la tabla II. El tratamiento estadístico de los resultados, realizado por análisis de la varianza, indica que los valores de eliminación fecal de calcio endógeno en las ratas gestantes son significativamente mayores que los de los animales no gestantes ($P < 0,001$) y que las pérdidas de calcio endógeno por heces son significativamente superiores en los animales que comen la dieta básica añadida de oxalato sódico ($P < 0,001$).

Discusión

En un trabajo anterior habíamos notificado el aumento de los valores de calcio endógeno en heces debido a la adición de oxalato sódico a la dieta. El nivel entonces empleado fue de 1,34 % y ahora se comprueba de nuevo esta influencia a un nivel más bajo (0,56 %).

Evidentemente, el mecanismo de acción del oxalato sódico es la precipitación del calcio. Hay que tener en cuenta que no todo el calcio segregado por la pared intestinal se elimina por heces, sino que su mayor parte es reabsorbido. El oxalato, al precipitar el calcio segregado impediría esta reabsorción y aumentaría la excreción fecal.

No hay relación estequiométrica entre el oxalato sódico ingerido y el aumento de excreción de calcio. Esto es debido a que parte del oxalato sódico ingerido es absorbido antes de actuar sobre el calcio, y no es disponible para su precipitación.

La gestación aumenta visiblemente la eliminación de calcio endógeno, lo que probablemente es debido a la movilización de calcio provocada por la conmovión endocrina que caracteriza a esta peculiar situación fisiológica. El hecho de que cuando la gestación es más avanzada disminuyen las pérdidas de calcio, podría ser interpretado como una consecuencia de las necesidades aumentadas de calcio en relación con la calcificación de los fetos.

El aumento en la excreción de calcio debido al oxalato sódico es bastante uniforme en las tres situaciones ensayadas (no gestación y gestación en los dos períodos), a pesar de que los valores de calcio en heces son muy diferentes. Evidentemente, la acción del oxalato es meramente fisicoquímica y no se ve afectada por las necesidades de calcio de las ratas, ni por los cambios fisiológicos durante la gestación.

Es curioso, por último, que, a pesar de las pérdidas aumentadas de calcio, que coinciden con un aporte nulo de calcio alimenticio, en ninguno de los animales gestantes se presentaron alteraciones durante la gestación y el número de hijos y las características post-partum de la prole fueron absolutamente normales.

Resumen

Se determina la eliminación de calcio fecal de origen endógeno, alimentando las ratas con una dieta privada de calcio.

Se estudian las modificaciones en los valores de calcio fecal endógeno por la adición de oxalato sódico a la dieta, así como la influencia de la gestación en dos diferentes períodos: uno más próximo a la fecundación y otro más próximo al parto.

Por último, se observa la influencia de las pérdidas de calcio sobre el número de hijos de las ratas preñadas. De los resultados obtenidos, se concluye que:

Durante la gestación aumenta notablemente la eliminación fecal de calcio endógeno. En el período más avanzado de la gestación los valores de calcio fecal endógeno son menores, aunque siempre por encima de los obtenidos en ratas no gestantes.

Ratificamos la influencia del oxalato sódico aumentando la excreción de calcio endógeno por heces, que ya ha sido anteriormente citada por nosotros.

El aumento de calcio endógeno fecal debido a la adición de oxalato es muy semejante para ratas no gestantes y gestantes, en cualquiera de los dos períodos ensayados. Esto parece indicar que la actuación del oxalato es independiente de la cuantía de la excreción y secreción de calcio. El mecanismo de acción del oxalato es

la precipitación del calcio segregado por la pared intestinal.

En ningún caso el aumento de la eliminación fecal de calcio endógeno provocado por el oxalato alteró aparentemente el desarrollo de la gestación, el parto o las características de la prole.

Summary

Fecal elimination of endogenous calcium in pregnancy rats

We determined the elimination of endogenous fecal calcium, by feeding the rats on a calcium-free diet.

A study was made of the modifications in the values of endogenous fecal calcium due to the addition of sodium oxalate to the diet; as well as gestation at two different periods, one nearer fecundation and the other nearer birth.

Lastly, we observed the influence of the losses of calcium on the number of offspring of pregnant rats.

We have drawn the following conclusions:

Fecal elimination of endogenous calcium increases notably during gestation. Values of endogenous fecal calcium are less during the more advanced period of gestation, although always higher than those obtained in non-pregnant rats.

We confirm that sodium oxalate increases the excretion of endogenous calcium in faeces. We had already reported this.

The increase of endogenous fecal calcium due to the addition of oxalate is very similar for both pregnant and non-pregnant rats during either of the two periods tested. This appears to indicate that the action of the oxalate is independent of the quantity of the excretion and secretion of calcium. As we suggested on a previous occasion, the action mechanism of the oxalate is the precipitation of the calcium secreted by the intestinal wall.

The increase of the fecal elimination of endogenous calcium caused by the oxalate did not in any case apparently alter the development of gestation, birth or the characteristics of the offspring.

Bibliografía

1. DUVAL-ERNY, A. y KAISER, C.: *C. R. Soc. Biol.*, 158, 1945, 1964.
2. GARCIN, H.: *Acad. Sci.*, 261, 249, 1965.
3. MITCHELL, H. H.: *Comparative Nutrition of Man and Domestic Animals*, vol. II, página 403. Academic Press, New York-London, 1964.
4. PHILIP, B. H. BERNARD, L. O. y SUMMERSON, W. H.: *Practical Physiological Chemistry*. 12 th. Ed. pág. 1020. Churchill, J. A. Ltd., London, 1947.
5. SIDDIQI, M. A.: *Indian J. Exp. Biol.*, 3, 64, 1965, citado en *Nutr. Abst. Reviews*, 35, abst. 6070, 1965.
6. VARELA, G. y MURILLO, A.: *Proc. Nutr. Soc.*, 25, xxvii, 1966.
7. VARELA, G. y MURILLO, A.: *Anal. Bromatol.*, XIX, 91, 1967.
8. VOROB'eva, A. M.: *Vop. Pitan.*, 23, 64, 1964, citado en *Nutr. Abst. Reviews*, 34, abst. 6021, 1964.

