

Secreción y excreción de calcio endógeno en ratas

G. Varela y A. Murillo

Laboratorio de Fisiología Animal. Facultad de Farmacia.
Universidad de Granada (España)

(Recibido el 6 de noviembre de 1970)

G. VARELA and A. MURILLO. *Secretion and Excretion of Endogenous Calcium in Rats*. R. esp. Fisiol., 27, 73-78, 1971.

A study is made of the faecal elimination of endogenous calcium in rats fed with calcium-free diets in which the protein source was boiled liver powder or a lipid-protein complex of peanuts. The diets were adjusted to 12 % protein, 4 % fat, 8 % fibre, mineral complex (without Ca), vitamin complex and sugar and starch in equal parts up to 100 g of dry weight. The influence of increasing doses of sodium oxalate on endogenous calcium is also studied. An approximate technique is suggested for the separate quantitative determination of the endogenous secretion of calcium, reabsorption of secreted endogenous calcium and faecal excretion of calcium.

Se sabe desde hace tiempo que no todo el calcio que se elimina por heces procede de la dieta, ya que una cierta cantidad de calcio de origen endógeno se une al contenido intestinal y es eliminado por vía fecal. Dentro de este calcio endógeno, MITCHELL (14) distingue entre calcio procedente de los jugos digestivos y productos de descamación de las células de la mucosa y calcio que pasa de la sangre a la luz del intestino.

CRAMER (8) encuentra que cuando se hace circular una solución que no contiene calcio por asas de yeyuno (en perros), entra calcio en el lumen intestinal, sea cual fuera la osmolaridad de dicha solución.

En la especie humana, se han citado muy diversos valores de calcio fecal endógeno (mg Ca/kg/día) 1,3 (1), 3,7 (20), 3,0 (4, 7) 1,0 (5), 1,5 (3). También en el hombre, SPENCER *et al.* (19) han observado que el 10 % del ⁴⁵Ca administrado in-

travenosamente escapa del cuerpo por excreción fecal. KINNE *et al.* (13), en sus estudios de absorción de calcio en el hombre, emplean una corrección de 200 mg/día por calcio fecal de origen endógeno. Este valor es intermedio dentro de los márgenes obtenidos por HEANEY y SKILLMAN (11), que representan la fracción no reabsorbida (aproximadamente un 15 %) del calcio endógeno total segregado.

El calcio fecal endógeno en ratas fue establecido por NICOLAYSEN (17) en 1,5-5 mg/kg/día, y por HEGGENESS (12), en 0,8 mg/kg/día.

Hay que señalar, a este respecto, que el tracto digestivo es una auténtica vía de excreción de calcio, que en este aspecto supera a la vía renal. Aparte de la eliminación de calcio por la saliva, jugo gástrico, jugo pancreático, bilis y jugo entérico, el intestino grueso es responsable de una cierta excreción de calcio, según han de-

mostrado BERGEIM (2), en ratas, y STEWART y PERCIVAL (21) en colon de gato.

La bilis es la secreción digestiva cuya relación con el calcio endógeno se ha estudiado con más detenimiento. Sin embargo, actualmente su importancia a este respecto parece escasa. En primer lugar, la concentración de calcio en la bilis se afecta poco por las características de la dieta (9). Además, GREENBERG y TROESCHER (10) han confirmado la escasa participación de la bilis, ya que sólo el 4-5 % de ^{45}Ca inyectado intraperitonealmente aparece en la bilis. Contribuciones semejantes de la bilis a la excreción de calcio han sido descritas por SINGER *et al.* (18), y por último, BRISCOE y RAGAN (6) han reforzado este punto de vista demostrando que el calcio biliar es total o casi totalmente reabsorbido en el intestino.

Material y métodos

Hemos realizado un total de 13 experiencias utilizando en cada una un lote de 10 ratas adultas, 5 machos y 5 hembras, de raza Nestlé, de un peso medio de 175 g. Los animales estaban alojados en células individuales de metabolismo que permitían el control de ingesta y la recogida por separado de orina y heces. Estas células estaban situadas en una habitación termorregulada ($21 \pm 2^\circ \text{C}$) con sistema de renovación de aire y con un período medio de iluminación de 14 horas (luz solar). La duración de cada experiencia es de 10 días: los tres primeros, de adaptación al alimento, y los otros siete, de control alimentario y fecal. En una ocasión se recogió también orina. Durante las experiencias, los animales comen *ad libitum* y beben agua destilada, también sin limitación. Entre cada dos experiencias los animales gozan de un período de recuperación en el que la dieta asegura un buen aporte de calcio.

Las dietas se han ajustado siempre al 12 % de proteína, 4 % de grasa (aceite de oliva), 8 % de fibra (celulosa pura), com-

plemento mineral (sin calcio) y vitamínico, y azúcar de caña y almidón de trigo a partes iguales, hasta 100 (dieta «básica»). Cuando se ha ensayado algún aditivo, hemos sustraído su nivel de la cantidad de azúcar y almidón añadidos. El problema de la fuente proteica carente de calcio lo hemos resuelto en unas ocasiones con un complejo lipido-proteico de cacahuete, del comercio, y otras veces con hígado de vacuno cocido y lavado con agua destilada, desecado por calor y pulverizado. Tanto en los componentes de la dieta, como en la dieta misma, se han determinado humedad, proteína, grasa y fibra, y en todos ellos se ha comprobado ausencia de calcio por análisis cualitativo de las cenizas de 1 g de muestra con EDTA 0,01 M (ácido etilendiaminotetracético, sal disódica) ante murexida.

La determinación de calcio en las heces se ha realizado en las cenizas, por complejometría directa empleando EDTA 0,01 M, a pH 13, y murexida como indicador. Las interferencias de los aniones, sobre todo fosfatos, se han evitado por separación cromatográfica, utilizando una columna de resinas zerolit 225 H^+ form.

Resultados y discusión

El tracto digestivo es una vía importante de excreción de calcio. Ratas adultas que ingieren una dieta carente de calcio y ajustada al 12 % de proteína con hígado de vacuno cocido, eliminan por heces un promedio de 0,183 mg de calcio por gramo de sustancia seca ingerida (mg/g SS). Este valor es media de los valores individuales de 60 ratas y aunque la dispersión entre los distintos animales es bastante grande, supone siempre una pérdida sensible. Expresado en mg/kg de peso y por día, la citada cifra equivale a 13,7. Esta última forma de expresión utilizada por otros autores no nos parece aconsejable, por cuanto a lo largo de estas y anteriores experiencias (15, 16) no hemos podido encontrar correlación entre la eliminación fe-

cal endógena de calcio y el peso de los animales, aunque hay que hacer la salvedad de que en nuestras experiencias hemos utilizado siempre animales adultos, y que la correlación puede existir cuando se comparen animales de muy distinta edad y, sobre todo, en diferentes fases de su desarrollo. Tampoco existe correlación entre la ingesta y la eliminación fecal de calcio endógeno, por lo que referir los resultados a 100 g de SS ingerida, como hemos hecho en anteriores publicaciones, no es tampoco definitivamente adecuado. En conclusión, creemos lo más acertado dar cifras absolutas que pueden interpretarse fácilmente teniendo presentes las variables de ingesta, peso, duración de las experiencias y composición de la dieta, que deberán hacerse constar independientemente. En tres experiencias en que los animales se alimentaron con una dieta preparada con el complejo lipídoproteico de cacahuete, el valor medio (30 animales) de calcio fecal endógeno fue de 8,6 mg en total. Este valor es significativamente inferior al obtenido con hígado ($P < 0,001$), lo que sugiere una influencia de la proteína de la dieta sobre la eliminación fecal de calcio endógeno. Esta variación en los valores fecales no indica necesariamente diferente secreción, ya que podría tratarse de una distinta eficacia del proceso de reabsorción del calcio segregado. A este respecto son

interesantes los resultados obtenidos por nosotros (16) al determinar la digestibilidad del calcio en dietas idénticas, cuya única diferencia fue la fuente proteica. La eficacia de absorción del calcio en las dietas preparadas con complejo lipídoproteico de cacahuete fue significativamente superior a la obtenida en dietas preparadas con hígado, y esta diferencia podría mantenerse cuando consideramos reabsorción en vez de absorción, por tratarse de procesos con un mismo mecanismo. Esto no excluye la posibilidad de que la secreción también sea diferente y pensamos que cambios en ambos procesos (secreción y reabsorción) contribuyen a los cambios de excreción.

En una ocasión en que la eliminación absoluta de calcio endógeno por heces en un lote de 10 ratas fue de 10,4 mg en 7 días, la excreción urinaria de calcio endógeno fue de 9,8 mg. Estas cifras indican que el riñón y el tubo digestivo reparten su habilidad para excretar calcio de origen corporal.

En trabajos anteriores (15, 16) habíamos comprobado que la adición de oxalato sódico a una dieta sin calcio aumentaba extraordinariamente la eliminación fecal de calcio endógeno. Pensamos entonces que este efecto se ejercía por precipitación del calcio endógeno segregado, impidiéndose así su reabsorción. Para comprobar esta hipótesis añadimos EDTA a la dieta, con la idea de que rescataría parte del calcio precipitado por el oxalato, pero, contrariamente a lo previsto, la adición de oxalato y EDTA condicionó un aumento del calcio fecal endógeno aún mayor que el producido por oxalato sódico solo. Posteriormente comprobamos que la inyección intramuscular diaria de EDTA aumentaba también el calcio endógeno, lo que situaba la citada teoría del mecanismo de acción del oxalato como probable pero no comprobada, ya que el EDTA, por su mecanismo de acción extraintestinal, introdujo una nueva variable.

Para aclarar definitivamente este punto

Tabla 1. *Eliminación fecal de calcio endógeno.* Entre paréntesis, el número de experimentos.

Adición a la dieta básica		Calcio fecal endógeno		
Fuente proteica	Oxal. Na %	mg/g SS *	mg/kg/día	mg total
Hígado	(60) —	0,183 ± 0,038	13,7	15,9
Cacahuete	(30) —	0,111 ± 0,014	7,4	8,6
—	(10) 0,28	0,294 ± 0,015	18,5	26,6
—	(10) 0,56	0,552 ± 0,053	31,5	43,3
—	(10) 1,00	0,562 ± 0,029	37,6	43,2
—	(10) 1,34	0,577 ± 0,018	35,8	46,2

* SS. sustancia seca ingerida.

realizamos cuatro experiencias empleando la misma dieta carente de calcio, añadiendo dosis crecientes de oxalato sódico. Las dos primeras dosis empleadas (0,28 y 0,56 %) supusieron un notable aumento del calcio fecal endógeno, que fue, aproximadamente, proporcional a la dosis (26,6 y 43,3 mg, respectivamente). Dosis superiores (1,00 % y 1,34 %) no variaron sensiblemente los valores de calcio en heces (43,2 y 46,2 mg, respectivamente). Estos resultados pueden interpretarse a la luz del mecanismo de acción antes mencionado. El calcio endógeno segregado, una vez en la luz intestinal, no se distingue del calcio alimenticio; es simplemente calcio y como tal se somete al proceso de absorción, al cual nos referimos en este caso como reabsorción. Esta reabsorción estaría disminuida por la presencia de oxalato, que impediría el regreso del calcio endógeno al organismo, y entenderíamos así el efecto de dosis crecientes de oxalato, disminuyendo cada vez más la reabsorción. El hecho notable de que a partir de cierta dosis no haya nuevo aumento del calcio endógeno, sugiere que el proceso de reabsorción se ha bloqueado en su totalidad y, por tanto, el exceso de oxalato no puede tener efecto. No debemos buscar una relación estequiométrica entre el oxalato añadido y el calcio precipitado, ya que el oxalato sódico se absorbe en cierta proporción y es difícil predecir su presencia real en el contenido intestinal en un momento dado.

Una consecuencia de estos resultados y esta interpretación es que, siendo 8,6 mg la cifra media de calcio endógeno definitivamente excretado, los valores entre 43 y 46 mg deben considerarse como la cifra aproximada del calcio segregado, y la diferencia entre ambos datos significa el calcio endógeno segregado que normalmente se reabsorbe. Haciendo uso de esta argumentación, podemos concluir que el proceso de reabsorción devuelve al organismo un 80 % del calcio endógeno segregado, valor no muy lejano del 85 % en-

contrado por HEANEY y SKILLMAN (11), y que, en consecuencia, la excreción de calcio supone aproximadamente un 20 % de su secreción.

En resumen, creemos que nuestros resultados pueden ser la base de una nueva técnica extraordinariamente sencilla que permita cuantificar y separar los conceptos secreción endógena de calcio, reabsorción de calcio endógeno segregado y excreción fecal de calcio endógeno. La técnica consistiría en calcular la dosis de oxalato que produce la máxima excreción fecal de calcio en animales alimentados con dietas carentes de calcio y compararla con la excreción normal en animales que ingieren la misma dieta pero sin oxalato.

La técnica tiene dos inconvenientes. En primer lugar, sólo es válida para especies animales en las que el oxalato tiene el efecto que nosotros hemos encontrado en ratas. En segundo lugar, existe la posibilidad de que la captación del calcio por el oxalato en la luz intestinal incremente el paso de calcio en el sentido serosa-mucosa, dando valores ligeramente superiores a los normales.

Las experiencias con distintas dosis de oxalato se realizaron empleando la proteína de cacahuete como fuente proteica de la dieta. Si comparamos estos resultados con los obtenidos para dietas preparadas con hígado (15), la conclusión es que el efecto del oxalato es mucho mayor en estas últimas, lo que está de acuerdo con la menor excreción fecal de calcio endógeno en dietas sin oxalato preparadas con la proteína de cacahuete.

Por último, este efecto del oxalato podría encontrar aplicación en determinados tipos de investigaciones fisiológicas en las que puede convenir una previa deplección en calcio de los animales, por ejemplo, estudios sobre el efecto de la calcitonina. A este respecto, las citadas dietas suponen una ración ajustada que sólo carece de calcio, lo que ya de por sí reduciría el calcio corporal. Pero si la dieta contiene oxalato sódico, la disminución de calcio cor-

poral se aumenta y acelera. Este efecto puede inducirse aún más rápidamente administrando oxalato sódico y EDTA simultáneamente, pero el EDTA es un agente peligroso que debe usarse con mucho cuidado y que puede afectar el metabolismo del calcio de muchas formas difíciles de precisar.

Resumen

Se estudia la eliminación fecal de calcio endógeno en ratas alimentadas con dietas carentes de calcio en que la fuente proteica fue polvo de hígado cocido o un complejo lipidoproteico de cacahuete. Las dietas se ajustaron al 12 % de proteína, 4 % de grasa, 8 % de fibra, complejo mineral (sin calcio), complejo vitamínico y azúcar y almidón a partes iguales hasta 100 g de peso seco. Se estudia la influencia del oxalato sódico a dosis crecientes sobre el calcio fecal endógeno. Se sugiere una técnica aproximada para cuantificar separadamente los conceptos secreción endógena de calcio, reabsorción del calcio endógeno segregado y excreción fecal de calcio.

Bibliografía

1. BAUER, W., ALBRIGHT, F., y AUB, S. C.: *J. Clin. Invest.*, **7**, 75, 1929.
2. BERGEIM, O.: *J. Biol. Chem.*, **70**, 35, 1926.
3. BLAU, M., SPENCER, H., SWERNOV, J., GREENBERG, J., y LASZLO, D.: *J. Nutr.*, **61**, 507, 1957.
4. BLAU, M., SPENCER, H., SWERNOV, J., y LASZLO, D.: *Science*, **120**, 1029, 1954.
5. BRINE, C. L., y JOHNSTON, F. A.: *Amer. J. Clin. Nutr.*, **3**, 418, 1955.
6. BRISCOE, A. M., y RAGAN, C.: *Amer. J. Clin. Nutr.*, **16**, 281, 1965.
7. BRONNER, F., HARRIS, R. S., MALETSKOS, C. J., y BENDA, C. E.: *J. Clin. Invest.*, **35**, 78, 1956.
8. CRAMER, C. F.: *J. Nutr.*, **84**, 118, 1964.
9. DRURY, D. R.: *J. exp. Med.*, **40**, 797, 1924.
10. GREENBERGER, D. M., y TROESCHER, F. M.: *Proc. Soc. exptl. Biol.*, **49**, 488, 1942.
11. HEANEY, R. P., y SKILLMAN, T. G.: *J. Lab. Clin. Med.*, **64**, 29, 1964.
12. HEGGENESS, F. W.: *J. Nutr.*, **68**, 573, 1959.
13. KINNE, V. R., TAUXE, W. N., y DARING, W. H.: *J. Lab. Clin. Med.*, **66**, 187, 1965.
14. MITCHELL, H. H.: «Comparative Nutrition of Man and Domestic Animals». Vol. II, p. 403. Academic Press, N. Y., 1964.
15. MURILLO, A., y VARELA, G.: *Anal. Bromatol.*, **19**, 91, 1967.
16. MURILLO, A., y VARELA, G.: (En prensa).
17. NICOLAYSEN, R.: *Biochem. J.*, **31**, 107, 1937.
18. SINGER, L., MAQSOOD, M., MEDLEN, A. B., y COMAR, C. L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **66**, 404, 1957.
19. SPENCER, H., LI, M., SAMACHSON, J., y LASZLO, D.: *Metab. clin. exptl.*, **9**, 916, 1960.
20. STEGGERDA, F. R., y MITCHELL, H. H.: *J. Nutr.*, **45**, 201, 1951.
21. STEWART, C. P., y PERCIVAL, G. H.: *Biochem. J.*, **21**, 301, 1927.

