

Factores que afectan la digestibilidad, absorción y retención del calcio. Efecto del oxalato, ácido etilendiaminotetracético (sal disódica), ácido nitrilotriacético, lisina y calidad proteica

A. Murillo, Margarita S. Campos * y G. Varela

Departamento de Fisiología Animal
Universidad de Granada

(Recibido el 16 de diciembre de 1971)

A. MURILLO, M. S. CAMPOS and G. VARELA. *Factors Affecting the Digestibility, Absorption and Retention of Calcium, Oxalate, Ethylen-Diamine-Tetracetic Acid (Disodium Salt), Nitril Triacetic Acid, Lysine and Protein Quality.* R. esp. Fisiol., 28, 115-124. 1972.

Studies have been made in rats about the nutritive utilization of calcium, judged by the following indexes: efficacy of calcium absorption by small intestine in anaesthetized rats, calcium digestibility coefficient, increase in body calcium and calcification of the femur bone. We study the influence on these parameters of the following variables: protein quality, lysine content in the diet, sodium oxalate, ethylenediamine tetracetic acid disodium salt (EDTA-Na₂) and nitril-triacetic acid. Sodium oxalate greatly decreased the efficacy of calcium absorption in small intestine (4.4 %) and calcium digestibility coefficient (D.C. = 13 %) and induced a very low retention of calcium in the body. EDTA-Na₂ increased the efficacy of calcium absorption in presence of oxalate (16.5 %) but decreased the gained body calcium. The absorption efficacy of calcium given as a complex with EDTA-Na₂ (16.1 %) was smaller than the absorption obtained when calcium was given as a chloride (22.1 %). Digestibility coefficient of calcium given in the diet as carbonate (D.C. = 58.3 %) was higher than in the case when calcium was given as a complex with EDTA-Na₂ (D.C. = 48.4 %). The nitril-triacetic acid caused a negative balance of calcium and a net loss of calcium in the bone. Protein quality had a strong influence; the calcium digestibility coefficient was higher in diets with peanut protein (D.C. = 58.3 %) than in those made with heated liver protein (D.C. = 35.3 %). Addition of lysine to the diet improved the calcium digestibility coefficient.

El calcio es uno de los más importantes componentes minerales de la dieta y la deficiencia de este catión es siempre un problema en nutrición. Pueden producirse

dichas deficiencias, aun con una dieta rica en calcio, siempre que éste no sea utilizado en la proporción adecuada. En este caso, la mayor o menor utilización del calcio alimenticio depende en primer lugar de su capacidad de disolverse en el lumen intestinal. Una parte del calcio ali-

* Con una Beca de Formación de Personal Investigador.

menticio se pierde porque es precipitado al pH intestinal por algunos aniones que lo acompañan frecuentemente en la dieta, tales como oxalatos y fitatos. Por otra parte, el calcio puede formar en el intestino complejos muy solubles pero no ionizados, lo que también puede afectar el paso del calcio a través de la mucosa intestinal.

Estas circunstancias tienen interés práctico ya que el oxalato abunda en algunos vegetales empleados en nutrición animal, como la hoja de remolacha, y el fitato abunda, por ejemplo, en los cereales. Frente a estos agentes de efecto negativo sobre la absorción de calcio hay una serie de factores nutritivos, aparte de los vitamínicos, que pueden afectar la digestibilidad del calcio y cuya acción es en muchas ocasiones confusa y objeto de controversia. Tal es el caso del ácido cítrico y los citratos, ácido málico, proteína y aminoácidos, grasa, lactosa, etc. El mecanismo de acción de los citados compuestos no es del todo conocido pero como la mayoría pueden afectar la solubilidad del calcio, es posible que la variabilidad de sus efectos según los distintos autores y circunstancias experimentales se deban, al menos en parte, a la distinta composición de las dietas empleadas, en las que la posible existencia de agentes precipitantes y solubilizadores de calcio no ha sido siempre estudiada. En esta idea radica el interés de analizar el efecto de agentes solubilizantes del calcio en presencia y ausencia de un compuesto como el oxalato sódico, de cuya intervención tenemos experiencia en la absorción de calcio en ratas.

Material y métodos

Desde el punto de vista metodológico, este trabajo comprende tres partes: 1) determinación de absorción de calcio en intestino delgado completo de rata anestesiada, por la técnica de perfusión intestinal; 2) determinación del coeficiente de digestibilidad (C.D.) del calcio por la técnica

de Mitchell del balance digestivo en ratas intactas conscientes, y 3) determinación de ganancia de calcio corporal por análisis de la carcasse.

Para el estudio de la absorción intestinal se han utilizado ratas adultas de ambos sexos, anestesiadas (uretano, 1 g/kg, i.p.) y con ayuno previo de 36 horas al comienzo de la experiencia. Después de laparatomía media se liga el conducto biliar en su desembocadura y se introduce una cánula en el comienzo del duodeno y otra al final del ileon, de forma que el líquido que se introduce por la cánula duodenal perfunda a través de todo el intestino delgado y pueda recogerse por la cánula ileal; estas cánulas se usan igualmente para el lavado previo del intestino con solución salina isotónica. La composición de la solución de perfusión base es la siguiente: ClNa, 7,37 g/l; ClK, 0,2 g/l; $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,065 g/l; $\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,213 g/l; Cl_2Ca , 1,02 g/l; CO_3HNa , 0,6 gramos/l; glucosa, 1 g/l. El pH de esta solución es 7,5. Cuando se ensayaron otros pH, la acidificación se consiguió por adición de ácido clorhídrico. Cuando se midió absorción de calcio a partir de su complejo con el EDTA- Na_2 , este complejo fue la única fuente de calcio en la solución. En otras experiencias se añadieron a la solución oxalato sódico y EDTA- Na_2 . En todos los casos la osmolalidad se mantuvo modificando el contenido de la solución en cloruro sódico. La velocidad de perfusión fue de 10 ml por hora y el volumen total perfundido 20 ml. El nivel de calcio y la velocidad de perfusión fueron elegidos como óptimos después de varios ensayos previos en que se emplearon distintas concentraciones de cloruro cálcico en el líquido de perfusión y distinta velocidad de perfusión. Esta velocidad es tal que permite que una solución entrante a pH 1 abandone el ileon a pH neutro. La salida por la cánula ileal no es continua, sino por pequeñas oleadas. El sistema de perfusión está termorregulado y las soluciones entran en el duodeno a 38° C. La

eficacia de absorción de calcio se expresa en tanto por ciento de calcio absorbido en relación con el introducido en el intestino.

El coeficiente de digestibilidad del calcio se ha determinado siguiendo la técnica de Mitchell empleando ratas adultas de ambos sexos. Los lotes han sido de diez animales excepto en las experiencias en que se investigó el efecto de la lisina, que fueron programadas en cuadrado latino, con cuatro lotes de cinco animales (L_1 , L_2 , L_3 y L_4), cada uno de los cuales ingirió sucesivamente las cuatro dietas que se ensayaban. La duración de cada experiencia fue de diez días, tres de adaptación y siete de control alimentario y de excretas. En estas experiencias se ha calculado el C.D. (aparente) como porcentaje del calcio ingerido que fue absorbido, sin emplear la corrección por calcio endógeno.

Se han preparado cuatro tipos de dietas:

DIETA B. (0,4 % de Ca) ajustada al 12 % de proteína aislada de cacahuete sin glúcidos ni calcio; contiene un 1 % de carbonato cálcico como única fuente de calcio, 4 % de grasa, 8 % de celulosa, complementos mineral y vitamínico y azúcar de caña y almidón de trigo, a partes iguales, hasta 100. Contiene 5 mg/kg de vitamina D y 0,5 % de fósforo.

DIETA C. (0,4 % de Ca) semejante en todo a la dieta B, pero preparada con hígado de vacuno cocido, lavado con agua destilada para eliminar el calcio y desecado.

DIETA D. Igual que la dieta B, pero el 0,4 % de calcio que contiene es aportado por oxalato cálcico en vez de por carbonato cálcico.

DIETA E. Igual que la dieta B, pero el 0,4 % de calcio que contiene es aportado por el quelato de EDTA- Na_2 y calcio en vez de por carbonato cálcico.

A las dietas se añaden los compuestos

objeto de estudio en las proporciones que se indicarán.

Para la determinación de ganancia de calcio corporal por análisis de la carcasse se ha empleado la siguiente técnica: se seleccionan 20 ratas macho al destete, de pesos muy próximos y se forman cuatro lotes de animales.

Todos los lotes comen la dieta B añadida de oxalato sódico (1,34 %) durante los tres primeros días de las experiencias, que son de adaptación. A continuación se sacrifica el lote B (blanco), cada rata es incinerada y las cenizas se disuelven en CIH 5 N; en la solución clorhídrica se determina el calcio, que se considera calcio corporal al comienzo de la experiencia. Sin incluir los tres días de adaptación, las experiencias duran 20 días, durante los cuales el lote T (tipo) siguió comiendo la dieta del período de adaptación y los lotes P_1 y P_2 (problemas), esta misma dieta añadida de EDTA- Na_2 (0,3 %) y ácido nitrolotriacético (0,3 %), respectivamente. Al final de la experiencia se sacrifican los animales y se determina en ellos el calcio en el fémur izquierdo y el calcio corporal total. La diferencia entre el calcio corporal total al final de la experiencia y el calcio corporal del lote B, se considera ganancia de calcio durante el período experimental.

El análisis de calcio se ha realizado por complexometría con EDTA- Na_2 0,01 M (a pH 13, ante murexida) de la solución clorhídrica de las cenizas de las dietas, heces, fémur o animal entero. Previamente a la valoración final, las soluciones se pasan a través de unas columnas de resina *Zerolit 225 H⁺ form*, que retienen los cationes y dejan pasar los aniones, algunos de los cuales, como el fosfato, interfieren la determinación. Los cationes retenidos en las resinas se eluyen con CIH 5 N y el eluato se evapora a sequedad, se redisuelve en agua destilada y se valora.

Todos los resultados se tratan estadísticamente por análisis de la varianza, para conocer su significación.

Resultados

La tabla I resume los resultados de absorción de calcio por intestino delgado de rata perfundido con soluciones conteniendo cloruro cálcico o calcio acomplejado por EDTA-Na₂ como fuente de calcio, a diferentes pH y añadidas o no de oxalato sódico y EDTA-Na₂. La tabla II resume los resultados de coeficiente de digestibili-

dad (C.D.) del calcio de dietas cuya fuente de calcio fue carbonato cálcico, quelato de EDTA-Na₂ con calcio u oxalato cálcico, añadidas o no de oxalato sódico, citrato sódico y lisina.

La tabla III muestra la ganancia de calcio corporal y el contenido de calcio en el fémur de animales alimentados con una dieta que contiene 1 % de CO₃Ca y 1,34 % de oxalato sódico, añadida de EDTA-Na₂ (0,3 %) o ácido nitrilotriacético (0,3 %).

Los resultados de determinación de contenido de calcio total en plasma en animales en distintas condiciones se expresan en la tabla IV.

Tabla I. Absorción de calcio por el intestino delgado de rata.

Solución perfundida	pH	Absorción Ca %	Peso medio g	Nivel de significación %
R ₁ (25)	7,5	22,1±0,49	174	R ₁ -R ₃ 0,1
R ₂ (12)	1,4	32,6±0,75	181	R ₁ -R ₆ 0,1
R ₄ (23)	1,0	4,4±0,93	166	R ₃ -R ₄ 0,1
R ₅ (10)	1,3	16,5±0,25	159	R ₃ -R ₅ 0,1
R ₆ (21)	8,1	16,1±0,42	175	R ₄ -R ₅ 0,1

La solución R₁ responde a la composición especificada en el apartado de método y contiene el calcio como cloruro. La solución R₂ es la misma acidificada con ClH. Las soluciones R₄ y R₅ son semejantes a la R₃, pero contienen 0,123 % de oxalato sódico (la R₄) y 0,123 % de oxalato sódico + 0,382 % de EDTA-Na₂ (la R₅). La solución R₆ contiene 0,38 % del quelato del EDTA-Na₂ con el Ca y es la única que no contiene Cl₂Ca.

Entre paréntesis, número de animales por experiencia.

Discusión

En publicaciones (14, 15) anteriores se había informado que la adición de oxalato sódico a una dieta reduce extraordinariamente el C.D. del calcio, y que este efecto negativo era parcialmente compensado por la adición de EDTA-Na₂. Se interpretaban estos hechos sobre la base de que el oxalato sódico precipitaba el calcio como oxalato cálcico e impedía su absorción y que el EDTA-Na₂ redisolvió

Tabla II. Influencia del oxalato sódico, citrato sódico y lisina sobre el coeficiente de digestibilidad (C.D.) del calcio.

La dieta B está preparada con proteína de cacahuete y contiene 0,4 % de calcio (carbonato). La dieta C es semejante a la B pero está preparada con proteína de hígado. La dieta D es igual que la B pero el calcio es aportado por oxalato cálcico. La dieta E es igual que la B pero el calcio es aportado por el complejo del EDTA-Na₂ con el calcio. Entre paréntesis número de animales por experiencia.

Experiencia	Dieta	Peso medio g	C. D. (%)	Nivel de significación %
OX (10)	D	160	13,0±0,67 (e)	(e-g) 0,1
ED (10)	E	176	48,4±0,59 (f)	(e-f) 0,1
H ₇ -H ₁₀ (20)	C	175	35,3±1,2 (a)	(a-b) 0,1
H ₇ -H ₁₀ (20)	C+oxalato Na 1,34 %	175	9,3±2,2 (b)	(a-c) 5
H ₇ -H ₁₀ (20)	C+lisina 1 %	175	40,7±0,9 (c)	(c-d) 0,1
H ₇ -H ₁₀ (20)	C+oxalato Na 1,34 % + lisina 1 %	175	11,0±1,8 (d)	(b-d) No sig.
X ₁ * (10)	B	168	58,3±1,5 (g)	(g-h) 0,1
Y ₁ * (10)	B+oxalato sódico 1,34 %	187	37,9±1,5 (h)	(g-i) 0,1
Z ₁ * (10)	B+oxalato+citrato Na 2,9 %	160	46,2±1,7 (i)	(h-i) 0,1

* Datos tomados de MURILLO y VARELA (10).

Tabla III. *Cambios en el calcio corporal (dietas B con CO₂Ca 1%)*
 Valores medios de 5 animales. Dietas de los distintos lotes: T = B + oxalato sódico (1,34%); P₁ = B + oxalato sódico (1,34%) + EDTA-Na₂ (0,3%); P₂ = B + oxalato sódico (1,34%) + ácido nitrilotriacético (0,3%).

Lote		Calcio mg
B	Calcio corporal	8,7 *
T	Ingesta de calcio	497
	Variación de calcio corporal	+25,0
	Calcio en fémur	17,9
P ₁	Ingesta de calcio	525
	Variación de calcio corporal	+12,2
	Calcio en fémur	17,6
P ₂	Ingesta de calcio	324
	Variación de calcio corporal	-24
	Calcio en fémur	16,3

* mg/g peso.

este calcio dejándolo de nuevo disponible para la absorción. Esta interpretación supone que el oxalato cálcico no es absorbible por no ser soluble y que el complejo EDTA-Na₂ con el calcio sí lo es, por ser soluble (aunque es un complejo no ionizado).

Las experiencias de perfusión intestinal (tabla I) demuestran que, cuando se añade oxalato sódico al líquido de perfusión, la absorción de calcio es pequeñísima (4,4%), significativamente más baja que la absorción de calcio en ausencia de oxalato y en las mismas condiciones (32,6%). En

Tabla IV. *Efecto del EDTA-Na₂ sobre el contenido de calcio total en plasma de ratas alimentadas con la dieta estándar del criadero.*

EDTA-Na ₂	mg Ca % en plasma	Núm. de animales
Grupo control. Dieta estándar	13,3	10
EDTA-Na ₂ , 0,4 % en la dieta	12,7	5
EDTA-Na ₂ , (70 mg/kg) por vía intraperitoneal	15,4	7

este caso es indiferente emplear soluciones con cloruro cálcico y oxalato sódico o directamente con oxalato cálcico, ya que para obtener una solución es necesario bajar el pH (en nuestro caso con CIH) y en definitiva el líquido entrante contendrá el calcio como cloruro, acompañado del anión oxalato. Es la subida del pH debida a la alcalinización intestinal lo que hace que el calcio precipite como oxalato cálcico; la pequeña absorción de calcio observada corresponde probablemente al tiempo en que el pH fue aún suficientemente ácido para mantener el calcio en solución. La situación es semejante en las experiencias de digestibilidad, con animales intactos, en los que la única fuente de calcio fue el oxalato cálcico. En estos animales, el estómago entrega al duodeno una masa alimenticia que contiene la mayor parte del calcio como cloruro. La neutralización en el intestino proporciona un pH adecuado a la reconstrucción del oxalato cálcico, y por eso la mayoría del calcio se pierde por heces. El coeficiente de digestibilidad del calcio como oxalato (C.D. = 13%) es significativamente inferior al del calcio como carbonato (C.D. = 58,3%), en las mismas condiciones experimentales y con una dieta idéntica. En ambos tipos de experiencias la dispersión en los resultados de eficacia de absorción de calcio en presencia de oxalato es muy superior a la que normalmente se obtenía en este tipo de ensayos, lo que se debe probablemente a la variabilidad del proceso de precipitación *in vivo* del calcio.

Las experiencias de determinación del coeficiente de digestibilidad del calcio acompañado por EDTA-Na₂ demuestran que este compuesto es perfectamente absorbible (C.D. = 48,4%) aunque con una dieta semejante el calcio como carbonato se absorbió en mayor proporción (C.D. = 58,3%) (tabla II). Las experiencias de perfusión intestinal (tabla I) ratifican este punto. La eficacia de absorción del complejo EDTA-Na₂ con el calcio fue bastante alta (16,1%) aunque inferior a la del

cloruro cálcico en las mismas condiciones experimentales (22,1 %).

Dada la fácil absorción del derivado cálcico del EDTA y su conocido poder de rescatar *in vitro* calcio precipitado por el oxalato, la adición de EDTA-Na₂ a la solución con Cl₂Ca y oxalato sódico eleva significativamente la eficacia de absorción de calcio, que alcanza valores muy semejantes a los de absorción de calcio acompañado por EDTA-Na₂.

Los resultados comentados respecto al efecto del oxalato y del EDTA-Na₂ corroboran definitivamente la interpretación del efecto de estos agentes sobre la digestibilidad del calcio alimenticio que ha sido comprobado anteriormente en nuestro laboratorio.

Las experiencias realizadas con dieta cuyo aporte proteico estaba asegurado por hígado de vacuno cocido y desecado permiten analizar el efecto de la calidad proteica y la lisina sobre la digestibilidad del calcio. El C.D. del calcio con la dieta «C» preparada con hígado desecado (C.D. = 35,3) es significativamente inferior al C.D. del calcio con una dieta muy similar, «B», preparada con proteína de cacahuete (C.D. = 58,3) (tabla II). Puesto que ambas dietas sólo difieren en el tipo de proteína, ya que el nivel proteico es en ambos casos el 12 %, hay que admitir que la proteína de cacahuete colabora más a la absorción de calcio que la de hígado desecado. Con esta última fuente proteica el C.D. del Ca es verdaderamente bajo, aunque, no obstante, no llega a los valores de 20 % (3), 26 % (1), 12 % (7), 18 % (11), encontrados por diversos autores, y se acerca en cambio a las digestibilidades de calcio encontradas por VARELA y MURILLO (14) en ratas y empleando también dietas con hígado como fuente proteica. Creemos que, aunque en la mayoría de los trabajos citados se estudiaba la influencia del nivel de calcio en la dieta, la gran variabilidad en los valores de eficacia de absorción de calcio encontrados por los distintos autores podría en parte

deberse a las diferentes proteínas empleadas.

La importancia de la proteína en la absorción del calcio es conocida desde los trabajos de MCCANCE *et al.* (6), que concluyeron que, de una dieta que no contiene proteínas ni aminoácidos, sólo una mínima parte del calcio puede ser absorbida. HALL y LEHMANN (2) observaron que la adición de polvo de peptona hacía aparecer como adecuadas en calcio, dietas con muy bajo nivel de este elemento. Se cree que el efecto beneficioso de la proteína puede deberse a la formación de complejos de los que el calcio es fácilmente liberado en forma adecuada para su absorción. A un mecanismo de este tipo han atribuido LING *et al.* (4) el elevado coeficiente de digestibilidad de la leche. Además, las proteínas son fuentes de aminoácidos, muchos de los cuales colaboran en la absorción de calcio.

La lisina, en nuestras condiciones experimentales, produjo un aumento cierto del coeficiente de digestibilidad del calcio. Este efecto fue más marcado en dietas sin oxalato, mientras que en las que contenían este anión las diferencias no fueron significativas. En este sentido, la acción de la lisina difiere de la encontrada para el citrato (10) o el EDTA (8), que se manifestaban en presencia pero no en ausencia de oxalato. Un punto de vista adecuado para interpretar esta diferencia sería que la lisina no actúa, como el citrato o el EDTA, solubilizando el calcio precipitado, sino formando con el calcio compuestos que atraviesan la mucosa intestinal con especial facilidad. No se puede pensar en que la lisina actuase después de ser absorbida, ya que WASSERMAN *et al.* (16) vieron que la administración parenteral de lisina no producía cambios en la absorción de calcio y RAVEN *et al.* (12) comprobaron que la lisina sólo ejerce su acción cuando coincide con el Ca⁴⁵ y ni siquiera cuando están en regiones vecinas del intestino, lo que pone de manifiesto la necesidad de contacto entre ambos.

La influencia de la lisina sobre la absorción de calcio ha sido muy discutida y esta fue una de las razones que nos movieron a este estudio. SPENCER y SMACHSON (13) encontraron que aunque en estudios con Ca^{45} la lisina produjo un ligero aumento de la absorción de calcio, la adición de 10 ó 20 g de lisina diarios a una dieta que proporciona 1 g de calcio al día no tiene efectos sobre el C.D. de este catión en el hombre. WASSERMAN *et al.* (16) en estudios de absorción de Ca^{45} administrado por vía oral pusieron de manifiesto que la lisina duplica la absorción de calcio y más tarde el grupo de WASSERMAN (17) concluyó que la mejora de absorción de calcio producida por la lisina es incluso superior al efecto de la vitamina D. Sin embargo, posteriormente, RAVEN *et al.* (12) han encontrado que la adición a la dieta de 1, 2 ó 4 % de lisina no tiene efectos beneficiosos sobre la absorción de calcio. MACK *et al.* (5) han observado una mejora en el crecimiento y mayor densidad de los huesos en los niños de un orfanato, cuando suplementaron la dieta con 3,5 g de lisina diarios. Estos resultados dispares podrían conciliarse si se analizase en conjunto el contenido en lisina de las dietas empleadas, porque es probable que cuando la dieta ya contiene suficiente cantidad de lisina, la adición de este aminoácido no tenga efecto aparente. En nuestras experiencias, el tratamiento de cocción prolongada y desecación por calor fue suficientemente severo para inactivar parte de los aminoácidos de la proteína de hígado y quizá por ello la adición de lisina tiene un efecto beneficioso que puede visualizarse.

Este efecto de la lisina no es singular y probablemente otros muchos aminoácidos son capaces de colaborar en la absorción de calcio, lo que podría explicar la influencia de la calidad proteica. Concretamente la arginina tiene un probado efecto beneficioso sobre la absorción de calcio (16).

La tabla III resume los resultados de las experiencias en que se estudió el

aumento de calcio corporal con distintas dietas ajustadas al 12 % de proteína con proteína de cacahuete y cuya única fuente de calcio era CO_3Ca al 1 % (0,4 % de calcio). La primera observación que podemos hacer es que el aumento de calcio corporal fue siempre muy escaso en relación con la ingesta, incluso en animales cuyo aumento de peso fue considerable (aunque siempre inferior al normal). La explicación de este escaso aprovechamiento del calcio es la presencia de oxalato en todas las dietas. La adición de $EDTA-Na_2$ a la dieta no se tradujo en beneficio, antes al contrario, el aumento de calcio corporal fue la mitad del obtenido en su ausencia, a pesar de que la ingesta de calcio fue ligeramente superior. Dado que el $EDTA-Na_2$ aumenta la absorción del calcio en dietas que contienen oxalato (14 y 15) su efecto negativo sólo puede atribuirse a un aumento de la eliminación urinaria de calcio, efecto que sería semejante al ya descrito en un trabajo anterior para el citrato sódico (10). El $EDTA-Na_2$ también aumenta notablemente la excreción de calcio endógeno por heces (8), pero este efecto no es cuantitativamente suficiente para justificar el escaso aumento de calcio corporal.

El $EDTA-Na_2$, al acomplejar el calcio plasmático, podría disminuir el calcio iónico en sangre, lo que estimularía la secreción de parathormona que movilizaría calcio óseo y produciría hipercalcinuria. Esta posibilidad teórica explicaría el efecto negativo del $EDTA-Na_2$ sobre la retención de calcio, pero no estamos aún en condiciones de considerar esta hipótesis de mecanismo de acción, ya que por el citado proceso debería producirse también hipercalcemia y el contenido plasmático de calcio en los animales que comieron $EDTA-Na_2$ fue idéntico a los del lote tipo. No obstante, la administración intraperitoneal de $EDTA-Na_2$ produjo elevación del contenido de calcio en el plasma. Esta elevación puede ser debida al citado mecanismo indirecto con intervención de

la parathormona, o a una acción directa del EDTA-Na₂, disolviendo y movilizándolo el calcio óseo. De hecho, en ensayos previos realizados en nuestro laboratorio (9) de perfusión de extremidades inferiores de la rata, la adición de EDTA-Na₂ a la sangre que perfunde parece inducir una diferencia arteriovenosa negativa (la sangre venosa contienen más calcio que la arterial).

La adición de ácido nitrilotriacético produce una considerable pérdida de calcio corporal. El mecanismo de acción es evidentemente la desmineralización del hueso, y de hecho el contenido de calcio en el fémur es significativamente menor en este lote que en el tipo. Hay que suponer que aunque la ingesta de calcio fue menor con la dieta que contenía ácido nitrilotriacético (que fue consumida en menor cantidad), esta diferencia no justifica la pérdida de calcio corporal frente al aumento observado en el grupo tipo, pérdida que debe interpretarse como resultante de la capacidad del ácido nitrilotriacético para movilizar el calcio óseo y la insuficiencia del aporte alimenticio para compensarlo.

La conclusión general de estas experiencias es que los agentes precipitantes y solubilizadores de calcio compiten por la captación de este catión y esta interferencia modifica significativamente la utilización del calcio, no sólo a nivel digestivo, sino a escala metabólica general, por lo que la composición cuali y cuantitativa de la dieta debe conocerse y controlarse cuidadosamente cuando se aborda el problema de calcular el aporte real de calcio con un criterio fisiológico.

Resumen

Se estudia en ratas la utilización nutritiva del calcio, juzgada por los siguientes índices: en ratas anestesiadas, eficacia de absorción de calcio en intestino delgado y en animales intactos conscientes, coeficiente de digestibilidad de calcio, ganancia de calcio corporal y calcifica-

ción del fémur. Se analiza la influencia sobre estos parámetros de las siguientes variables: calidad proteica, contenido en lisina de la dieta, oxalato sódico, ácido etilendiaminotetracético (sal disódica: EDTA-Na₂) y ácido nitrilotriacético.

El oxalato sódico disminuyó extraordinariamente la eficacia de absorción de calcio en intestino delgado (4,4 %) y su coeficiente de digestibilidad (C.D. = 13 %) y determinó un escaso incremento de calcio corporal. El EDTA-Na₂ aumentó la eficacia de absorción del calcio en presencia de oxalato (16,5 %) pero disminuyó la ganancia de calcio corporal. La eficacia de absorción de calcio administrado formando complejo con EDTA-Na₂ (16,1 %) fue inferior a la del calcio administrado como cloruro (22,1 %). El C.D. del calcio dado en la dieta como carbonato (C.D. = 58,3 %) fue superior al del calcio suministrado en su complejo con el EDTA-Na₂ (C.D. = 48,4 %). El ácido nitrilotriacético determinó un balance negativo de calcio, con desmineralización del hueso. La calidad proteica de la dieta influyó notablemente; el coeficiente de digestibilidad del calcio fue muy superior en las dietas con proteína de cacahuete (C.D. = 58,3 %) que en las preparadas con harina de hígado cocido (C.D. = 35,3 %). La adición de lisina a la dieta mejoró significativamente el C.D. del calcio.

Bibliografía

1. BREITER, H., MILLS, R., DWIGHT, J., MCKEY, B., AMSTRONG, W. y DUTHOUSE, J.: *J. Nutrition*, **21**, 351, 1941.
2. HALL, T. C. y LEHMANN, H.: *Biochem. J.*, **38**, 117, 1944.
3. HARRISON, H. E.: *Fed. Proc.*, **18**, 1085, 1959.
4. LING, E. R., KON, S. K. y PORTER, J. W. G.: «Milk: The Mammary Gland and its secretion», Vol. 2, p. 216. Academic Press, New York, 1961.
5. MACK, P. B., VOSE, G. P., KINARD, C. L. y CAMPBELL, H. B.: *Amer. J. Clin. Nutr.*, **11**, 255, 1962.
6. MCCANCE, R. A., WIDDOWSON, F. M. y LEHMANN, H.: *Biochem. J.*, **36**, 686, 1942.
7. MILLIS, J. y REED, F. B.: *Biochem. J.*, **41**, 273, 1947.
8. MURILLO, A.: «Influencia del oxalato sódico y del EDTA sobre la digestibilidad

- y eliminación fecal endógena de calcio en ratas». Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1967.
9. MURILLO, A. y MARGARITA S. CAMPOS: Datos no publicados. 1971.
 10. MURILLO, A. y VARELA, G.: *R. esp. Fisiol.*, 25, 35, 1969.
 11. PATTON, M. B. y SUTTON, T. S.: *J. Nutrition*, 48, 443, 1952.
 12. RAVEN, A. M., LENGEMANN, F. W., y WASSERMAN, R. H.: *J. Nutrition*, 72, 29, 1960.
 13. SPENCER, H. y SAMACHSON, J.: *J. Nutrition*, 81, 301, 1963.
 14. VARELA, G. y MURILLO, A.: *Proc. Nutr. Soc.*, 25, XXVII, 1966.
 15. VARELA, G. y MURILLO, A.: *An. Bromatol.*, 19, 91, 1967.
 16. WASSERMAN, R. H., COMAR, C. L. y NOLD, M. M.: *J. Nutr.*, 59, 371, 1956.
 17. WASSERMAN, R. H., COMAR, C. L., SCHOOLEY, J. C. y LENGEMANN, F. W.: *J. Nutr.*, 62, 367, 1957.

