

Efecto de la sobrecarga *in vitro* de Sr⁺⁺ y Ba⁺⁺ sobre la asociación de Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ y Pi a proteínas totales

J. F. Escanero y O. Alda

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Zaragoza

(Recibido el 27 de octubre de 1976)

J. F. ESCANERO and O. ALDA. *Effect of the Overload of Sr⁺⁺ and Ba⁺⁺ on the Association of Ca⁺, Mg⁺⁺ and Pi With Total Proteins, in vitro.* Rev. esp. Fisiol, 33, 177-180. 1977.

The percentage of ultrafiltrable calcium, magnesium and inorganic phosphate has been determined with overload of strontium and barium in concentrations of 50 and 100 ppm. The first and the third decreased significantly, whereas magnesium did not.

Los procesos metabólicos en que intervienen diferentes iones, aniones y cationes, vienen modulados por el *status* plasmático en que se encuentran dichos iones. SMITH (9) publicó una monografía en donde resaltaba que la falta de conocimiento de los mecanismos de transporte renal se debía, en gran parte, al escaso conocimiento del estado físico-químico de los complejos de calcio y magnesio en plasma y orina. Diez años después, WALSER y MUDGE (12) recogían 20 estudios sobre los aclaramientos de calcio y magnesio. En 1969, las cifras pasaban del centenar (12).

Las interacciones entre los diferentes alcalino-térreos a nivel renal son múltiples y manifiestas (1, 7, 8, 12). Sin embargo, los comienzos del estudio de las interdependencias a nivel del acarreo por las proteínas del plasma de los iones calcio y magnesio, así como del fósforo

inorgánico, ante la sobrecarga de otro alcalino-térreo no esencial, se iniciaron recientemente (2) para el caso del estroncio. En este trabajo se abordan comparativamente las inferencias del estroncio y bario sobre la asociación de calcio, magnesio y fósforo inorgánico a proteínas totales.

Material y métodos

Obtención de la muestra. Se utilizó sangre de carnero de raza merina, recogida de los vasos del cuello, arteriales y venosos, en el momento de sacrificar al animal. Se recogió bajo parafina líquida para mantenerla en condiciones de anaerobiosis.

La muestra se dejó coagular a la temperatura del laboratorio (20° C) por espacio de 4 horas, al cabo de las cuales y con jeringuillas parafinadas se extrajo

el suero y se centrifugó en las mismas condiciones de anaerobiosis, por espacio de 45 minutos, a 3.000 rpm, con objeto de obtener suero libre de hematíes.

Preparación de las diluciones. De cada muestra de suero, preparada como anteriormente se ha descrito, se hicieron 8 porciones distribuidas de la siguiente forma: una primera para la determinación de calcio y magnesio ultrafiltrable, a las condiciones de pH y temperatura que posteriormente se indican; una segunda — control —, diluida al décimo con agua desionizada; y, tres series de dos, diluidas también al décimo, conteniendo Sr^{++} , Ba^{++} y una mezcla de $Na^+-K^+-Li^+$, a concentraciones finales de 50 y 100 ppm.

Una vez preparadas las diluciones se procedió a determinar el pH de cada una de ellas. Del mismo modo y después de realizada la ultrafiltración se hizo otra determinación de las porciones que quedaban sin ultrafiltrar.

Técnicas utilizadas. La técnica utilizada para la ultrafiltración se ha descrito en un trabajo previo (2). Las determinaciones de calcio y magnesio se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica. El fósforo inorgánico se valoró como fosfomolibdato — kit de Boehringer —. Las proteínas totales se determinaron por la reacción del biuret (3). Finalmente, las medidas del pH se verificaron con un pHmetro Radiometer.

Resultados y Discusión

El cálculo de las porciones ultrafiltrables de calcio y magnesio se realizó sin aplicar ningún factor de corrección, ni por agua sérica, ni por equilibrios de Donnan, puesto que para el caso de los cationes divalentes, estas fuerzas son opuestas en dirección y de aproximadamente la misma magnitud (11). El porcentaje de fósforo inorgánico ultrafiltrable

se corrigió de acuerdo con el factor resultante de la siguiente ecuación:

$$F_{total} = \frac{1}{V_{H_2O} \text{ de 1 ml de suero}} \times \frac{1}{F_{Donnan}}$$

El factor teórico de Donnan para aniones divalentes está comprendido entre 0,90-0,91 (10). A las condiciones fisiológicas de pH y temperatura, el factor efectivo para el fósforo sérico se puede considerar alrededor de 0,915 (11). El volumen de agua de 1 ml de suero resultó ser de: $0,939 \pm 0,003$ y el F_{total} a aplicar de 1,16.

Todos los porcentajes de ultrafiltrabilidad se calcularon a una temperatura de $20^\circ C$ y un pH inicial que osciló entre 7,37-7,40. Los valores de pH obtenidos al final de la ultrafiltración, en las porciones de suero que quedaron sin ultrafiltrar, variaron entre 7,6 y 7,8.

La adición de la mezcla de metales alcalinos no modificó la tasa de ultrafiltrabilidad de calcio (fig. 1), previsible por cuanto apenas si es considerable la fracción de estos iones que circulan unidos a

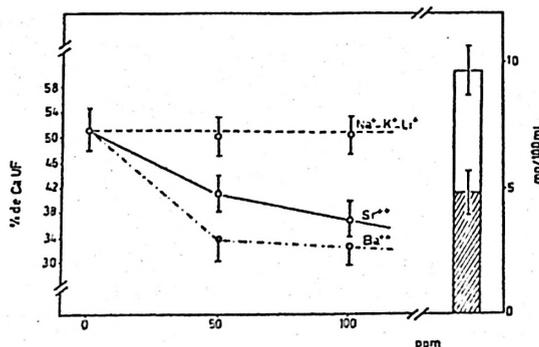


Fig. 1. Variaciones del porcentaje de calcio sérico ultrafiltrable — Ca UF — tras la sobrecarga in vitro de los alcalino-térreos Sr^{++} y Ba^{++} y una mezcla de $Na^+-K^+-Li^+$ a concentraciones finales de 50 y 100 ppm.

A la derecha se representa la concentración de calcio y de calcio ultrafiltrable en suero sin tratar.

las proteínas del plasma o suero. En cambio, el Sr^{++} y el Ba^{++} manifestaron un comportamiento distinto. El efecto del Sr^{++} se ha descrito en un trabajo previo (2), y los valores encontrados en el presente estudio coinciden sensiblemente con los publicados anteriormente. A la dosis de 50 ppm el Ba^{++} parece tener una mayor efectividad que el Sr^{++} en el sentido de promover que una mayor cantidad de calcio se asocie a las proteínas séricas.

El comportamiento de los alcalino-térreos Sr y Ba sobre la asociación de calcio a proteínas totales no se puede extrapolar a todas y cada una de las fracciones proteicas del suero. De hecho, se han encontrado resultados contradictorios cuando se analizó la asociación estroncio-albúmina bovina (2).

Mientras la mezcla de metales alcalinos no provocó efecto alguno sobre la asociación magnesio-proteínas totales (fig. 2), el Sr y Ba manifestaron un comportamiento similar y mucho menos efectivo que para la asociación calcio-proteínas totales, provocando descensos no significativos en la tasa de elemento ultrafiltrable.

La sobrecarga sérica de Sr^{++} y Ba^{++}

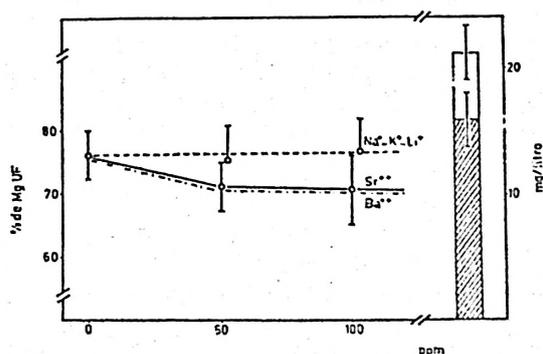


Fig. 2. Variaciones del porcentaje de magnesio sérico ultrafiltrable —Mg UF— tras la sobrecarga in vitro de los alcalino-térreos Sr^{++} y Ba^{++} y una mezcla de Na^+ - K^+ - Li^+ a concentraciones finales de 50 y 100 ppm.

A la derecha se representa la concentración de magnesio y de magnesio ultrafiltrable en suero sin tratar.

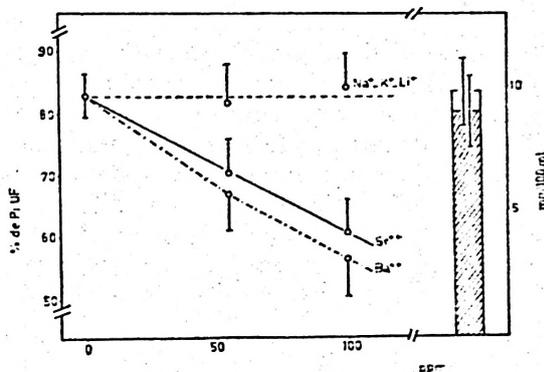


Fig. 3. Variaciones del porcentaje de fósforo inorgánico sérico ultrafiltrable —Pi UF— tras la sobrecarga in vitro de los alcalino-térreos Sr^{++} y Ba^{++} y una mezcla de Na^+ - K^+ - Li^+ a concentraciones finales de 50 y 100 ppm. A la derecha se representa la concentración de fósforo inorgánico y de fósforo inorgánico ultrafiltrable en suero sin tratar.

provocan descensos significativos sobre la asociación de fósforo inorgánico a proteínas totales, permaneciendo inalterables cuando se añadió una mezcla de metales alcalinos (fig. 3). Anteriormente, se había constatado que la filtrabilidad del fósforo podía llegar a reducirse marcadamente cuando se incrementaban las concentraciones plasmáticas de calcio o del propio fosfato (4-6).

Los resultados obtenidos sugieren que las proteínas plasmáticas parecen comportarse como un factor de seguridad frente a la llegada a sangre de un elemento que se comporta biológicamente de la misma forma que el calcio, bien para paliar las pérdidas de este ion por vía renal, bien para evitar otros disturbios metabólicos como el aumento del producto de las actividades de calcio y fósforo. En este sentido, se constató en un trabajo previo (2) que los productos de calcio por fósforo ultrafiltrables en suero sin tratar era similar a los productos de calcio más estroncio por fósforo ultrafiltrables en sueros a los que se sobrecargaban con diferentes concentraciones de Sr^{++} .

Sin embargo, el hecho de que se hayan utilizado dosis altamente elevadas requiere la necesidad de comprobación *in vivo* utilizando dosis marcadas para corroborar hasta qué punto este factor de seguridad debe tenerse en cuenta a la hora de calcular los aclaramientos de los diferentes alcalino-térreos ante la sobrecarga de otro que comparta las mismas rutas biológicas.

Resumen

Se han determinado los porcentajes de ultrafiltrabilidad de calcio, magnesio y fósforo inorgánico tras la sobrecarga de estroncio y bario a concentraciones finales de 50 y 100 ppm.

Calcio y fósforo inorgánico ultrafiltrables disminuyeron significativamente tras la sobrecarga de estroncio y bario. El magnesio ultrafiltrable decreció, aunque no significativamente.

Bibliografía

1. CLARK, I.: *Am. J. Physiol.*, **214**, 348-356, 1969.
2. ESCANERO, J. F.: Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Zaragoza. 1974.
3. GORNALL, A. C., BARDAWILL, C. J. y DAVID, M. M.: *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-766, 1949.
4. GROLLMAN, A.: *J. Biol. Chem.*, **72**, 565-573, 1927.
5. HARRISON, H. E. y HARRISON, H. C.: *J. Clin. Invest.*, **20**, 47-58, 1941.
6. HOPKINS, T. HOWARD, J. E. y EISENBERG, H.: *Johns Hopk. Hosp. Bull.*, **91**, 1-12, 1952.
7. PIE, A. y ESCANERO, J. F.: *Arch. Fac. Med. Zaragoza*, **23**, 111-118, 1975.
8. RAHILL, W. J. y WALSER, M.: *Am. J. Physiol.*, **208**, 1.165-1.170, 1965.
9. SMITH, H. W.: En «The Kidney. Structure and Function in Health and Disease», Oxford University Press, Londres, 1951, p. 56.
10. VAN SLYKE, D. D., WU, H. y McLEAN, F. C.: *J. Biol. Chem.*, **56**, 765-771, 1923.
11. WALSER, M.: *J. Clin. Invest.*, **40**, 723-730, 1961.
12. WALSER, M.: En «Mineral Metabolism» (Comar, C. L. y Bronner, F., eds.), vol. 3, Academic Press, Nueva York, 1969, p. 325.