

ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Tomo XIX - Núm. 2

1978

Consejo de Redacción

Director:

Prof. Dr. D. Jesús Cabo Torres

Director Ejecutivo:

Prof. Dr. D. José Luis Valverde

Vocales:

Prof. Dr. D. Alberto Ramos
Cormenzana

Prof. Dr. D. Fermín Sánchez
de Medina Contreras

Prof. Dra. María A. López

Prof. Dr. D. Diego Carlos
Guevara Benitez

Prof. Dr. D. José Jiménez
Martín

Secretario de Redacción:

Prof. Dr. D. Luis Bravo Díaz

Redacción y Administración:

Facultad de Farmacia.
Granada - España.

Dep. Legal. GR: núm. 17-1960

Imprime:

Gráficas del Sur, S. A.
Boquerón, 6
Granada 1978.

Sumario

PAG.

TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

- Excreción endógena de calcio en ratas: efecto de la edad, por A. Valverde y A. Murillo 173
- Estudio espectrofotométrico de diacetilmonotiosemicarbazona. Aplicación a la determinación de diacetilo, por M.^a R. Fátima Olea y R. García-Villanova 181
- Separación cuantitativa de ésteres fosfóricos de la Guanosina por técnicas de cromatografía de cambio iónico, por José M.^a Alvarez Pez y Anselmo García Fernández. 189
- Amp cíclico y hambre celular, por Fermín Sánchez de Medina Contreras... .. 197

TRABAJOS DE COLABORACION

- Identificación de bacterias en orinas y antibiogramas de las mismas, por J. L. Robles y J. Ferrero. 209
- Tesis doctorales leídas en la Facultad de Farmacia de Granada, durante el primer trimestre del curso 1977-78 219
- Crítica de libros 225

TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

DEPARTAMENTO INTERFACULTATIVO DE FISIOLOGIA ANIMAL

EXCRECION ENDOGENA DE CALCIO EN RATAS: EFECTO DE LA EDAD

A. VALVERDE y A. MURILLO

INTRODUCCION

Dentro de la dinámica metabólica del calcio uno de los aspectos menos estudiado es la secreción digestiva de calcio endógeno. Naturalmente no todo el calcio que llega al intestino por exorción se pierde por heces sino que una gran parte vuelve al medio interno y sólo lo que no es reabsorbido, es finalmente excretado constituyendo el calcio fecal endógeno.

Numerosos estudios han puesto de manifiesto este calcio fecal endógeno. Así, NICOLAYSEN (1) estableció para las ratas valores comprendidos entre 1-5, 3 mg/Kg de peso/día, mientras que HEGGENES (2), también en ratas, encuentra valores de 0,8 mg. Ca/Kg de peso/día. Por otra parte, VARELA y MURILLO (3), y para la misma especie, hablan de 0,11-0,18 mg de Ca/1 g de sustancia seca ingerida.

De una forma general podemos admitir que todos aquellos factores que alteran la absorción intestinal de calcio pueden modificar, en más o menos grado, su excreción fecal endógena, así como alterar su excreción por el riñón. Dentro de estos factores se pueden considerar ciertos estados fisiológicos que suponen una mayor movilización de calcio, como por ejemplo la edad.

BRISCOE y RAGAN (4) han encontrado que la ruta principal de excreción de calcio marcado en pacientes de 50-70 años son las heces mientras que según BRONNER y col. (5), en muchachos jóvenes esta excreción se efectúa preferentemente por orina. En lo que se refiere al calcio fecal endógeno, los trabajos realizados

en ratas (6), ratones (7) y ovejas (8) muestran un incremento de calcio fecal en los animales más viejos; dicho incremento es en gran parte de origen endógeno, ya que cuando la excreción total se corrige con esta fracción, la porción de calcio no absorbible resulta ser similar e independiente de la edad.

En cuanto a la excreción urinaria, los estudios realizados por KNAPP (9) en individuos de edad comprendida entre 1-80 años, muestran que aquella aumenta con la edad durante el período de crecimiento. Sin embargo, trabajos posteriores llevados a cabo en humanos ponen de manifiesto que la excreción renal de calcio disminuye con la edad (10). Asimismo, una reducción de la excreción urinaria en los animales viejos ha sido observada en ratas (11), (12) y ovejas (13), mientras que BRAITHWAITE y RIAZUDDIN (3) no encuentran alteraciones de calcio urinario en ovejas en crecimiento.

MATERIAL Y METODOS

Se han realizado un total de cuatro experimentos utilizando en cada uno de ellos un lote de 10 ratas, 5 machos y 5 hembras, de raza Nestlé, en distintos períodos de crecimiento y de pesos comprendidos entre 50 y 200 gramos. Los animales estaban alojados en células individuales de metabolismo que permiten 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 de iluminación de 14 horas. La duración de cada experimento es de 10 días: los tres primeros de adaptación al alimento y los otros siete de control alimentario y de excretas. Durante los experimentos los animales comen "ad libitum" y beben agua destilada, también sin limitación.

Las dietas se han ajustado al 12 por 100 de proteínas, 4 por 100 de grasa, 8 por 100 de fibra (celulosa pura) complemento mineral (sin calcio) y vitamínico, azúcar de caña y almidón de trigo. La fuente proteica, carente de calcio, es un complejo lipoproteico comercial de cacahuete, parcialmente desengrasado, pero cuyo contenido lipídico proporciona toda la grasa de la dieta. 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 la ausencia de calcio por análisis cualitativo de las cenizas de 1 gramo de muestra con EDTA 0,01 M (ácido etileno diamino tetracético, sal disódica) ante murexida.

La determinación de calcio en las heces se ha realizado en las cenizas por complexometría 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⁺ Form. El calcio urinario se ha determinado por fotometría de llama, empleando un fotómetro Standard II, de alto poder calorífico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Al hablar de calcio endógeno nos referimos al calcio fecal y urinario eliminado por animales que no ingieren calcio. Este concepto es claro en el caso del endógeno fecal pero es una denominación convencional o de compromiso en el caso del endógeno urinario, ya que, en cierto sentido, todo el calcio urinario es endógeno, incluso cuando se ingiere libremente en la dieta.

La excreción absoluta de calcio endógeno por heces aumenta con la edad (Tabla I), pero esto es debido a que los animales son mayores y comen más. Cuando el calcio fecal endógeno se refiere a un gramo de sustancia seca ingerida, los valores se hacen semejantes y entre ellos no hay diferencias significativas (Fig. 1), por lo que concluimos que la edad no afecta la excreción fecal de calcio endógeno.

Sin embargo DRAPPER (7) ha observado una mayor excreción de calcio endógeno por heces en los ratones más viejos, aunque los valores de endógeno son calculados por un método indirecto. También HIRONAKA y col. (6) nos hablan de una mayor excreción fecal endógena de calcio en animales de más edad, pero usan ratas muy viejas (más de dos años) que se salen ampliamente del margen de edades estudiado por nosotros.

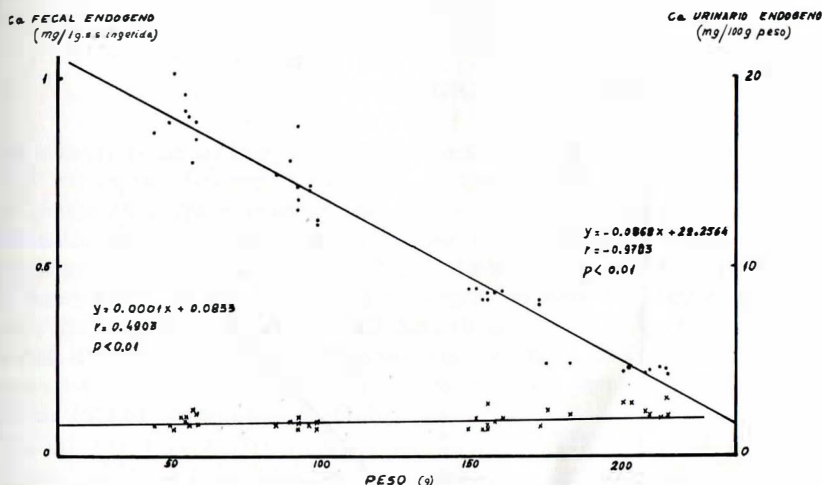
El calcio excretado por 100 gramos de peso corporal decrece con la edad (Tabla I), pero esto es debido a que el aumento relativo de ingesta es menor que el incremento de peso, y es la ingesta lo que hace variar la excreción fecal de calcio endógeno y no el peso o la edad.

TABLE I
EXCRECION ENDOGENA DE CALCIO (*)

	Peso medio (g)	g de S. S. in- gerida por animal y día	mg Ca fecal por animal y día	mg Ca fecal por 1 g S. S. ingerida	mg Ca fecal por 100 g de peso	mg Ca uri- nario por animal y día	mg Ca uri- nario por 100 g de peso
Experimento 1	53,9 ± 1,13	6,44 ± 0,23	0,59 ± 0,04	0,09 ± 0,005	7,56 ± 0,45	1,36 ± 0,04	17,74 ± 0,38
Experimento 2	92,8 ± 1,13	9,14 ± 0,17	0,75 ± 0,03	0,08 ± 0,003	5,66 ± 0,22	1,87 ± 0,05	14,14 ± 0,46
Experimento 3	157,8 ± 2,43	11,00 ± 0,62	0,93 ± 0,04	0,09 ± 0,01	4,15 ± 0,18	1,91 ± 0,02	8,55 ± 0,09
Experimento 4	202,5 ± 4,13	11,50 ± 0,46	1,40 ± 0,07	0,12 ± 0,004	3,47 ± 0,18	1,87 ± 0,03	4,62 ± 0,06

(*) Valores medios de 10 animales.

FIG.1 INFLUENCIA DE LA EDAD-PESO SOBRE LA EXCRECION ENDOGENA DE CALCIO

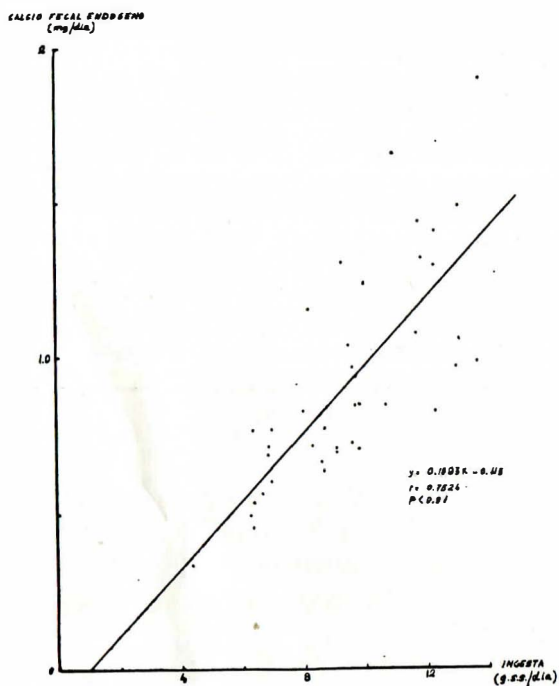


La expresión de los resultados de calcio fecal endógeno referidos a ingesta parece lógica, ya que la mayor parte del calcio fecal endógeno procede de secreciones digestivas y descamación de la mucosa intestinal, dos procesos que dependen considerablemente del volumen de ingesta.

La dependencia de calcio fecal endógeno de la ingesta aparece clara en la Fig. 2, y en este sentido nuestros resultados confirman la correlación estadística encontrada por HE SKILLMAN (14) entre calcio endógeno en heces e ingesta, en la especie humana. El problema es importante a efecto de uniformar unidades y poder comparar resultados. VARELA y MURILLO (3) no encontraron una correlación como la citada, pero las ratas empleadas eran de tamaño muy uniforme y por lo tanto la ingesta poco variable. Otros autores, expresan el calcio fecal endógeno por Kg de peso corporal, pero insistimos que esta unidad no es adecuada, y el error puede ser grande, porque aunque ingesta y peso varían en general en el mismo sentido no lo hacen con la misma intensidad.

En cuanto a la excreción urinaria de calcio endógeno (Tabla I), vemos que es, en valores absolutos por día, superior a la fecal, sobre todo en los animales de menor peso. Esto está de

FIG. 2 RELACION ENTRE CALCIO FECAL ENDOGENO E INGESTA



acuerdo con la excreción preferencial de calcio por orina en muchachos jóvenes, encontrada por BRONNER y col. (4).

Aparentemente y considerando los valores absolutos, la excreción diaria de calcio endógeno por orina aumenta con la edad. Pero hay que tener en cuenta que el calcio urinario endógeno es el resultado de la dinámica metabólica de dicho metal y que en consecuencia es función directa del tamaño corporal, por lo que los resultados deben expresarse en relación con el peso de los animales. Cuando se expresan adecuadamente, los valores de calcio urinario endógeno (por 100 gramos de peso corporal) (Fig. 1), disminuyen significativamente con la edad, sobre todo cuando se alcanza la madurez sexual.

Las grandes pérdidas de calcio por orina encontradas en los animales jóvenes debe atribuirse a que toda la dinámica del calcio está intensificada por el proceso de crecimiento.

RESUMEN

Se estudia la influencia de la edad sobre la excreción endógena, urinaria y fecal, de calcio. Los animales, ratas de raza Nestlé, y de pesos comprendidos entre 50 y 200 g ingieren una dieta carente de calcio.

La excreción fecal endógena, en valores absolutos, aumenta con la edad; sin embargo, los valores de endógeno fecal deben expresarse referidos a la ingesta ya que el calcio fecal endógeno procede de secreciones digestivas y descamación de la mucosa intestinal, volumen de ingesta. Cuando se expresan adecuadamente (por 1 g de s. s. ingerida), los valores de calcio fecal endógeno se hacen semejantes y entre ellos no existen diferencias significativas.

En cuanto a la excreción urinaria de calcio endógeno, es en valores absolutos superior a la fecal y además aumenta con la edad. No obstante, cuando dichos valores se refieren al tamaño corporal (por 100 g de peso) se observa un incremento en los animales jóvenes que puede atribuirse a que la dinámica del calcio está incrementada por el proceso de crecimiento.

SUMMARY

The influence of age on endogenous urinary and faecal calcium excretion was studied. The animals, rats from Nestlé strain, weighing between 50 and 200 g ingest a calcium-free diet.

The endogenous faecal excretion in absolute values increases with age; however the values of endogenous faecal must be expressed referred to ingesta since endogenous faecal calcium comes from digestive secretions and from desquamation of intestinal mucous membrane, processes which depend on the volumen of ingesta. When they are adequately expressed (per 1 g of ingested dry matter) the values of endogenous faecal calcium become similar and there are no significant differences among them.

With regard to urinary excretion of endogenous calcium it is in absolute values greater than faecal one, and it increases with age. Nevertheless when values are referred to corporal size (per 100 g of body weight) it is observed an increase in the young animals, that can be explained by the fact that calcium dynamics is increased by growth process.

RESUME

On a étudié l'influence de l'âge sur l'excrétion endogène, urinaire et fécale, de calcium. Les animaux, rates Nestlé, dont les poids étaient compris entre 50 et 200 g, ingerent une diète sans calcium.

L'excrétion fécale endogène, exprimé en valeurs absolutes augmente avec l'âge; cependant, ce paramètre doit se rapporter à l'ingeste car le calcium fécale endogène proviens de secretions digestives et desquamation de la muqueuse intestinale, procèses qui dépendent du volume de l'ingeste.

Lorsque on exprime de cette façon (par 1 g de s. s. ingerie) les valeurs de calcium fécale endogène se font semblables et parmi eux n'existent pas différences significatives.

L'excrétion urinaire de calcium endogène, est en valeurs absolutes supérieure à l'excrétion fécale et elle augmente avec l'âge. Cependant, lorsque on réfère ces valeurs au poids corporel, on remarque un accroissement dans les animaux jeunes qu'on peut attribuer au fait de que la dynamique du calcium est incrementée par le process de la croissance.

BIBLIOGRAFIA

- (1) NICOLAYSEN, R.: *Biochem, J.*, 31, 107, 1937.
- (2) HEGGENES, F. W.: *J. Nutr.*, 68, 573, 1959.
- (3) VARELA, G., y MURILLO, A.: *An. Bromatol.*, 19, 91, 1967.
- (4) BRISCOE, A. M., y RAGAN, C.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 16, 281, 1965.
- (5) BRONNER, F.; HARRIS, R. S.; MALETSKOS, C. J., y BENDA, C. E.: *J. Clin. Invest.*, 35, 78, 1956.
- (6) HIRONAKA, R.; DRAPER, H. H., y KASTELIC, J.: *J. Nutr.*, 71, 356, 1960.
- (7) DRAPER, H. H.: *J. Nutr.*, 83, 65, 1964.
- (8) BRAITWAITE, G. D., y RIAZUDDIN, S. H.: *Brit. J. Nutr.*, 26, 215, 1971.
- (9) KNAPP, E. L.: *J. Clin. Invest.*, 26, 182, 1947.
- (10) DAVIS, R. H.; MORGAN, D. B., y RIVLIN, R. S.: *Clin. Sci.*, 39, 1, 1970.
- (11) GUTKOWSKI, P.: *Acta Physiol. Pol.*, 21, 555, 1970.
- (12) MILHAUD, G.; CHERIAN, A. G., y MOUKHTAR, M. S.: *Proc. Soc. Biol. Med.*, 114, 382, 1963.
- (13) FIELD, A. C.: *Brit. J. Nutr.*, 21, 631, 1967.
- (14) HEANEY, R. P., y SKILLMAN, T. G.: *J. Lab. Clin. Med.*, 64, 29, 1964.