



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

# Biblioteca Digital FCEN-UBA

## Necesidades de calcio : Estudio experimental en relación al estado nutricional y a la velocidad de crecimiento

Zeni, Susana Noemí  
1985

Tesis Doctoral

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Universidad de Buenos Aires

[www.digital.bl.fcen.uba.ar](http://www.digital.bl.fcen.uba.ar)

Contacto: [digital@bl.fcen.uba.ar](mailto:digital@bl.fcen.uba.ar)

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Fuente / source:

Biblioteca Digital de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

NECESIDADES DE CALCIO: ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RELACIÓN  
AL ESTADO NUTRICIONAL Y A LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

SUSANA NOEMI ZENI

DIRECTORA: MARÍA ESTHER RÍO DE GÓMEZ DEL RÍO

LUGAR DE TRABAJO: DEPTO. DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN  
EXPERIMENTAL - FACULTAD DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA - UBA.

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
DOCTORA EN QUÍMICA

1985

*Tesis 1911*  
*E. 2*

a mis hijos  
a mis padres  
a mi hermano  
a mis amigos  
a mis compañeras

!

a todos aquellos que de una u otra  
forma me han ayudado.

Agradezco muy especialmente a mi Directora de Tesis, Dra. María Esther Rlo de Gómez del Rlo, por fomentar y estimular mi interés científico y por su inigualable ayuda para poder llevar a término esta investigación.

Agradezco a la Dra. Marla Luz Pita Martín de Portela -quien me ha iniciado y guiado- por el apoyo dado a mi formación profesional, su confianza y su permanente ayuda para realizar mis investigaciones.

Agradezco también a:

- \* Mi consejera de estudios, la Dra. Leonor San Martín de Viale, por haber aceptado ser mi guía de estudios.
- \* La bioquímica Ingrid C. Romer, por su colaboración en el cuidado de los animales y en parte de las determinaciones químicas.
- \* La bioquímica Silvia M. Friedman, por contribuir a la realización de los dibujos.
- \* Depto. de Toxicología y Química Legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por permitirme el uso del Espectrofotómetro de Absorción Atómica y especialmente al bioquímico Mario H. Malamud por el asesoramiento en el uso del mismo.
- \* Todos los integrantes del Depto. de Bromatología y Nutrición Experimental que de alguna manera han contribuido a la realización de este trabajo.

Esta Tesis ha sido parcialmente financiada por la Secretaría de Estado de Ciencia y Tecnología (SECyT)-Programa Nacional de Investigación en Tecnología de Alimentos- (PNITA) y por la Universidad de Buenos Aires, a través del otorgamiento de Subsidios.

A B R E V I A T U R A S

A: Absorción  
AMP<sub>c</sub>: Adenosin-monofosfato-cíclico  
ATP: Adenosin-tri-Fosfatasa  
BCa: Balance de Calcio  
BN: Balance Nitrogenado  
BP: Balance de Fósforo  
Be: Berilio  
Cd: Cadmio  
Ca: Calcio  
CT: Calcitonina  
CaBP: Proteína que liga al Calcio (Calcium Binding Protein)  
ClH: Acido Clorhídrico  
Cl<sub>3</sub>La: Cloruro de Lantano  
ClNa: Cloruro de Sodio  
Co: Cobalto  
Conc.: Concentración  
D; Desnutridos  
1 $\alpha$ ,25diHOD<sub>3</sub>: 1 $\alpha$ ,25 dihidroxicolecalciferol  
DP: Diferencia de Peso  
D.S.: Desvío Estandar  
EDTA: Acido Etilendiamintetraacético (disódico)  
F: Flúor  
Fe: Eliminación Fecal  
I; Ingesta  
K: Potasio  
LEC: Líquido Extracelular  
M: Mol  
Mg: Magnesio  
Mn: Manganeso  
M/O: Relación entre el contenido, en fémur, mineral y de materia Orgánica.  
N: Normales  
Na: Sodio  
p: probabilidad  
P: Fósforo

$\bar{P}$ : Peso Promedio  
P%: Calorías Proteicas por 100 Kcal de dieta.  
PL.: Prolactina  
PTH: Hormona Paratiroidea  
r: Coeficiente de Correlación  
Req.: Requerimiento  
Sr: Estroncio  
STH: Somatotrofina  
T.: Tejido  
Tm: Transporte Máximo  
TSH: Tirotofina  
U: Eliminación Urinaria  
U.I.: Unidad Internacional  
V.G.P.: Velocidad de Ganancia Ponderal  
vs.: versus  
 $\bar{X}$ : Valor Promedio  
%: Porcentaje

## I N D I C E

### INTRODUCCION

### CALCIO EN ORGANISMOS SUPERIORES

1 a 3

### METABOLISMO DEL CALCIO

3 a 45

- 1.- Mecanismo de Absorción (4 a 8).
- 2.- Regulación de la Absorción de Calcio por Factores Fisiológicos y Nutricionales (8 a 9)
- 3.- Factores que Afectan la Absorción del Calcio (9 a 15)
- 4.- Calcio en Fluidos Corporales (15 a 17)
- 5.- Excreción Cálcica (18 a 21).
  - 5.1 Calcio Urinario (18 a 21).
  - 5.2 Calcio Fécal (21).
  - 5.3 Otras Vías de Excreción (21).
- 6.- Tejido Oseo (21 a 25).
  - 6.1 Generalidades (21 a 22).
  - 6.2 Composición (22 a 25).
    - 6.2.1 Agua (22)
    - 6.2.2 Fracción Mineral (22)
    - 6.2.3 Matriz Orgánica (22 a 23).
    - 6.2.4 Vesículas en la Matriz (23 a 24).
    - 6.2.5. Componentes Celulares (24 a 25).
  - 6.3 Formación Osea (25 a 30).
    - 6.3.1 Enzimas que Participan en la Formación Osea (28 a 30).
    - 6.3.2 Inhibidores de la Calcificación (30).
  - 6.4 Resorción Osea (30 a 33).
    - 6.4.1. Resorción Osteoclástica (31 a 32)
    - 6.4.2. Resorción Osteolítica (32)
    - 6.4.3 Enzimas que participan en la Resorción Osea (33)
  - 6.5 Acción de las distintas Hormonas sobre el Tejido Oseo (33 a 40).
    - 6.5.1 Hormonas que actúan sobre el Metabolismo Calcico (35 a 38).

- 6.- Tejido Oseo (Cont.)
  - 6.5 Acción de las distintas Hormonas sobre el Tejido Oseo (Cont.)
    - 6.5.2 Hormonas de Acción Sistémica (38 a 39).
    - 6.5.3 Factores de Crecimiento (39 a 40)
    - 6.5.4 Factores Locales (40).
    - 6.5.5 Acción de Vitaminas sobre el Tejido Oseo (40).
- 7.- Requerimientos (40 a 45).
  - 7.1 Adulto (42 a 43).
  - 7.2 Crecimiento (43 a 44).
  - 7.3 Embarazo y Lactancia (45).
  - 7.4 Vejez (45).

METABOLISMO DEL FOSFORO 45 a 47

ALTERACIONES DEL METABOLISMO FOSFO-CALCICO 47 a 51

- 1.- Osteoporosis (49 a 50)
- 2.- Raquitismo y Osteomalacia (50 a 51).
- 3.- Osteopetrosis (51)

OBJETIVOS 51 bis.

MATERIALES Y METODOS

EXPERIMENTACION CON ANIMALES DE LABORATORIO 52 a 61

- 1.- Generalidades (52).
- 2.- Constitución de los Grupos Experimentales (52 a 53).
- 3.- Parte Experimental (53 a 54).
- 4.- Dietas (54).
- 5.- Pruebas de Balance (54 a 57).
- 6.- Velocidad de Crecimiento (58)
- 7.- Otras Pruebas (58 a 59).
- 8.- Métodos Analíticos (59 a 61).
- 9.- Análisis Estadísticos (61).

## RESULTADOS

1.-	<u>CONSUMO DE ALIMENTOS Y PESO CORPORAL</u>	62
2.-	<u>VELOCIDAD DE CRECIMIENTO</u>	62 a 70
2.1	Animales Alimentados con 10% de Proteínas (64).	
2.2	Animales Alimentados con 20% de Proteínas (64 a 65).	
2.3	Animales Alimentados con 30% de Proteínas (65 a 67).	
2.4	Comparación de los Animales Normales Alimentados con los Tres niveles de Proteínas (67 a 68).	
2.5	Comparación de los Animales Desnutridos Realimentados con los Tres niveles de Proteínas (69 a 70).	
3.-	<u>ESTUDIOS DE BALANCE NITROGENADO</u>	71 a 72
3.1	Aumento de Peso y V.G.P. en Función del Balance Nitrogenado (71 a 72).	
4.-	<u>ESTUDIOS DE BALANCE Y FOSFORO</u>	72 a 82
4.1	Calcio y Fósforo Fecal (72 a 77).	
4.2	Absorción de Calcio y Fósforo (77 a 78).	
4.3	Calcio y Fósforo Urinarios (79).	
4.4	Balances de Calcio y Fósforo (79 a 82).	
5.-	<u>NIVELES DE PARATHORMONA DURANTE EL CRECIMIENTO</u>	82 a 86
5.1	Balances Totales de Calcio y Fósforo en Relación a los Niveles de PTH (83 a 85).	
5.2	Balances de Calcio y Fósforo en Relación a los Niveles de PTH (86).	
6.-	<u>CALCIO ABSORBIDO EN FUNCION DE LA VITAMINA D INGERIDA</u>	87 a 88
7.-	<u>ESTUDIO DE LOS FEMURES</u>	88 a 96
7.1	Peso Promedio (88 a 92).	
7.2	Longitud (92 a 93).	
7.3	Diámetro Medio (93).	
7.4	Porcentaje de Cenizas (93 a 94).	
7.5	Cantidad total de Cenizas (94).	
7.6	Cantidad de Matriz Orgánica (94 a 95).	

- 7.- ESTUDIO DE LOS FEMURES (Cont.)  
 7.7 Relación entre el Contenido Mineral y de Materia Orgánica (95 a 96).
- 8.- ESTUDIO DE LOS DISTINTOS PARAMETROS DE LOS FEMURES EN FUNCION DEL BALANCE TOTAL DE CALCIO 96 a 100  
 8.1 Longitud (96 a 97).  
 8.2 Diámetro Medio (98).  
 8.3 Matriz Orgánica (98).  
 8.4 Calcio Total en Fémur (98 a 99).  
 8.5 Cantidad, Porcentaje de Cenizas y Relación entre el Contenido Mineral a Materia Orgánica (100).  
 8.6 Calcio en Fémur por gramo de Tejido (100).
- 9.- ESTUDIO DE LOS DISTINTOS PARAMETROS EN FUNCION DEL BALANCE NITROGENADO 100 a 102
- 10.- ESTUDIO DURANTE EL CRECIMIENTO, DEL CONTENIDO DE CALCIO EN FEMUR EN FUNCION DE LOS NIVELES DE PARATOHORMONA 102 a 105  
 10.1 Calcio Total en Fémur (102 a 104).  
 10.2 Calcio en Fémur por gramo de Tejido (104 a 105).

## DISCUSION

- 1.- ALTERACIONES OSEAS PRODUCIDAS POR LA DESNUTRICION 106 a 117  
 1.1 Introduucción (106 a 109).  
 1.2 Período Inmediato al Destete, de Adaptación a la dieta (109 a 111).  
 1.3 Período de Crecimiento Acelerado (111 a 114).  
 1.4 Período de Crecimiento Lento (114 a 117).
- 2.- INTERRELACIONES ENTRE ESTADO NUTRICIONAL Y RETENCION DE CALCIO 117 a 127  
 2.1 Período de Adaptación a la Dieta, Postdestete (117 a 124).  
 2.2 Período de Recuperación (124 a 127).

<u>APLICACIONES AL HUMANO</u>	128 a 134
1.- Generalidades (128).	
2.- Metodología (129 a 132).	
2.1 Pacientes (129).	
2.2 Parte Experimental (129).	
2.3 Dietas (129 a 132).	
3.- Pruebas de Balance y Absorción (132).	
4.- Velocidad de Ganancia de Peso (132 a 133).	
5.- Métodos Analíticos (133).	
6.- Métodos Estadísticos (133 a 134).	
<u>RESULTADOS</u>	134 a 143
1.- Retención Nitrogenada (134).	
2.- Retención de Calcio y Fósforo (134 a 141).	
3.- Interrelaciones Ca/N y P/N (141 a 142).	
4.- Interrelaciones Ca/Vitamina D (143).	
<u>DISCUSION</u>	143 a 150
<u>DETERMINACION TEORICA DE LA RELACION Ca/PROTEINA O P/PROTEINA DE LAS DIETAS PARA RECUPERACION NU- TRICIONAL</u>	151 a 152
<u>CONCLUSIONES</u>	153 a 156
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	157 a 166
<u>APENDICE</u>	167

## I N T R O D U C C I O N

### CALCIO EN ORGANISMOS SUPERIORES

El Ca es un macronutriente mineral esencial y un componente constante de los tejidos, necesario para mantener la integridad, el crecimiento y la reproducción de los seres vivos.

El niño recién nacido a término contiene en su orga-nismo aproximadamente 0.8% de Ca (24g) (1,2); dicho valor se incrementa con la edad hasta alcanzar, en el adulto, alrededor del 1.7% de su peso corporal (1000 a 1500 g aproximadamente) (3). Así, desde el nacimiento hasta alcanzar la maduración física se incorporan al organismo más de 1000 g de Ca.

La mayor parte del Ca corporal (99%) forma parte del tejido óseo; el 1% restante se encuentra en los tejidos blandos, sangre y fluídos extracelulares. El hueso está forma-do por una matriz de naturaleza proteica, agua y cristales ó-seos. El porcentaje de estos componentes varía con la edad del hueso y con el estado nutricional del individuo. Los dientes están formados por cristales minerales similares a los del hue-so (4).

Como componente de los tejidos blandos, el Ca está involucrado en una serie de procesos biológicos esenciales, ta-les como los que se enumeran a continuación (6,5):

- \* Contracción muscular.
- \* Excitación nerviosa.
- \* Transmisión sináptica en las terminales nerviosas y neuromusculares.
- \* Coagulación sanguínea.
- \* Secreción glandular (Acetilcolina, Enzimas Pan-creáticas, Hormonas Hipofisarias, CT, PTH, etc.).
- \* Síntesis de Acidos Nucleicos, Fosfolípidos y Hormonas Esteroides.
- \* Estructura y Función de membranas.
- \* Función mitocondrial.
- \* División, motilidad y diferenciación celular.

- \* Activación y/o regulación de Enzimas: Entre las Enzimas que han sido identificadas como dependientes del Ca se encuentran: Lipoxidasa, Piruvato-carboxilasa, Glutámico-dehidrogenasa, Lipoprotein-Lipasa, Piruvato-quinasa, PTH-peptidasa.

El Ca en plasma se encuentra presente en tres formas: Ca iónico ( $\text{Ca}^{++}$ , forma en que el Ca ejerce sus funciones biológicas), Ca ligado a proteínas y Ca en forma de complejos con aniones orgánicos e inorgánicos (7).

En el citoplasma de las células animales, la concentración del Ca es de  $10^{-5}$  a  $10^{-8}$  M, mientras que en los fluidos extracelulares es cercano a  $10^{-3}$  M; por lo tanto, la entrada de Ca al citosol a través de la membrana celular, se realiza por medio de un proceso pasivo, de difusión presumiblemente facilitada a través de "carriers". En cambio, la salida de Ca de la célula no excitable es un proceso activo mediado por una bomba de Ca de membrana que es una Aspartilfosfato-ATPasa, llamada ATPasa-Ca-dependiente, diferente de la (Na/K)ATPasa. En las células excitables la salida se realiza por una difusión intercambiable entre el  $\text{Ca}^{++}$  y el  $\text{Na}^+$ .

Dentro de las células, el Ca se acumula en forma no ionizada en las mitocondrias y el retículo endoplasmático. El proceso es dependiente de energía, pero, a pesar de algunas similitudes entre ambas bombas de Ca existen diferencias; mientras la del retículo endoplasmático es una Ca-ATPasa, la de la mitocondria corresponde a un transporte energizado por un gradiente de  $\text{H}^+$  (ATPasa,  $\text{F}_0\text{-F}_1$ ).

La función principal del Ca es la de actuar como segundo mensajero, activando y regulando procesos y reacciones celulares. Entre las condiciones necesarias para que se produzca una respuesta mediada por Ca se encuentran: a) una concentración extracelular de Ca de  $10^{-3}$  M; b) mecanismos celulares que en reposo mantengan al Ca intracelular en un valor de  $10^{-7}$  M o menor; c) al producirse la estimulación, debe existir un incremento del Ca unido a distintos compuestos en el citosol, para mantener una concentración libre de  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M; d) receptores intracelulares -tales como Calmodulinas y Troponi-

na C muscular- que ligan al Ca con una  $K_a 10^{-6} M^{-1}$  para que en el estado estimulado la mayor parte de los sitios se encuentren ocupados, y, e) rápido retorno a la concentración de  $10^{-7} M$  o menor, por liberación del Ca de su receptor.

Varias hormonas alteran los procesos celulares sobre el transporte de Ca. En las células efectoras la PTH puede actuar como un ionóforo para el Ca, permitiendo directamente su entrada o salida a través de la membrana celular o bien, indirectamente, a través de la activación de la Adenilato Ciclasa por un proceso similar al de otras hormonas proteicas. La PTH también incrementa la concentración citoplasmática de Ca estimulando su salida desde la mitocondria, favoreciendo así el pasaje de Ca al exterior de la célula. La CT en cambio, si bien al igual que la PTH aumenta la captación de Ca por la célula, se diferencia de ella en que deprime su salida y estimula su entrada a mitocondria, disminuyendo así el Ca citoplasmático. La Vitamina D, actualmente considerada como hormona, altera el transporte celular de Ca, a través de su metabolito activo el  $1,25$ DihidroxiD<sub>3</sub> ya que estimula las ATPasas de membrana. A su vez, la PTH y la CT son influenciadas por otro nutriente mineral esencial, el Fósforo, que bajo la forma de Fosfato inhibe a la primera, pero estimula a la segunda; por esta razón, cuando su nivel en el LEC es alta, la concentración de Ca citoplasmática baja (8).

#### METABOLISMO DEL CALCIO

Como todo nutriente indispensable, el Ca debe ser aportado por la dieta. El Ca ingerido se ioniza en el estómago de acuerdo a la solubilidad de las diferentes sales, a la vez que se libera el que se encuentra unido laxamente a proteínas, debido al proceso de su desnaturalización. El Ca es absorbido principalmente en la porción superior del intestino delgado; de allí pasa a plasma donde se encuentra en su mayor parte como ión libre pero también unido a proteínas no específicas o formando complejos con aniones orgánicos o inorgánicos. El

Ca plasmático se encuentra en equilibrio dinámico con el tejido óseo, principal reservorio de Ca en el organismo.

Depósito

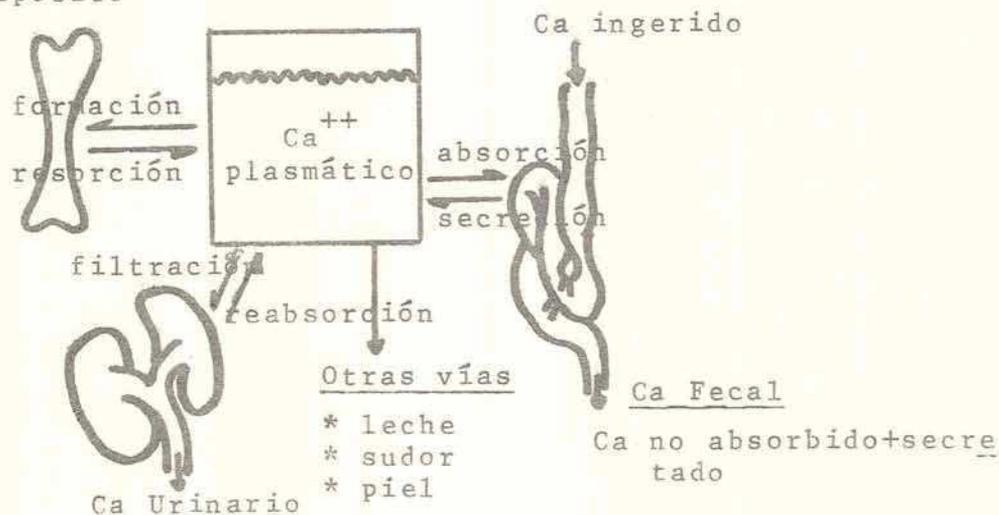


Figura 1

Las principales vías de eliminación del Ca son la orina y las heces. El Ca fecal, en su mayor proporción proviene de aquel, aportado por la dieta, que no se ha absorbido en su paso a través del intestino; también del secretado con los jugos digestivos, que no fue reabsorbido y que constituye el "Ca fécal endógeno". El Ca urinario es el no reabsorbido a lo largo del nefrón. Otras vías de eliminación son el sudor y la saliva. En las hembras de los mamíferos existe una importante vía de eliminación de Ca que es la secreción láctea.

#### 1.- MECANISMO DE ABSORCION

La absorción del Ca en el intestino podría representarse como la suma de dos tipos de mecanismos; uno saturable y el otro no saturable. El primero de ellos varía inversamente con la ingesta de Ca y con la edad del individuo, siendo elevado en los animales jóvenes o aquellos que ingieren bajas cantidades de Ca. Por el contrario, el no saturable parece ser simi

lar en animales jóvenes o adultos y no sería afectado por la ingesta previa de Ca. Ambos procesos son Vitamina D dependientes. Se postula que el proceso activo se produciría principalmente en el duodeno proximal y el pasivo predominantemente en la zona distal del intestino delgado, donde existe aparentemente, un gradiente de Ca entre su contenido en el lumen y la sangre. Se ha postulado que cuando existe un adecuado aporte de Ca el transporte pasivo predomina sobre el activo (9).

Actualmente se sabe que en su conjunto el pasaje del Ca desde el lumen hacia la lámina propia es un proceso activo, dependiente de Vitamina D y para el cual se han propuesto cuatro modelos distintos (Figura 2):

- a) El Ca difundiría como ión libre hacia el interior de la célula. Una vez allí, sería captado por organelas intracelulares, tales como mitocondrias, y por proteínas específicas, para mantener el Ca iónico en concentraciones intracelulares no tóxicas; luego abandonaría la célula por un proceso activo.
- b) A diferencia del modelo anterior, donde el Ca difundiría directamente al pozo citoplasmático, en este modelo, el Ca se asociaría en forma transiente con la superficie del ribete en capillo dando lugar a la formación de vesículas endocíticas. Estas vesículas coalescerían con lisosomas para producir lisosomas secundarios y finalmente se produciría la hidrólisis y liberación del Ca al fluido extracelular por exocitosis. La demostración de este modelo se basaría principalmente en la cuantificación de lisosomas secundarios cuya existencia hasta el presente no ha sido demostrada.
- c) Basado en el hecho conocido de que la mitocondria acumula Ca citoplasmático, se propuso su participación en el transporte transcelular de Ca. La mitocondria, con sus gránulos cargados de Ca, se transferiría así de la región apical a la basal, donde

descargaría el Ca al espacio extracelular.

- d) Por último, se ha propuesto el pasaje de Ca a través de caminos paracelulares. Los argumentos en favor de esta vía son consideraciones termodinámicas sobre movimientos de Ca dependientes de un gradiente de potencial electroquímico.

Los distintos trabajos publicados muestran resultados que no concuerdan con un sólo modelo, sino con parte de todos ellos (Figura 3). Así, se acepta hoy que, la entrada de Ca a la célula por medio de su transferencia a través del ribete en cepillo, es sin duda un proceso difusional pasivo a favor de un gradiente de potencial, ya que la concentración de Ca es de  $10^{-3}$  M fuera de la célula y  $10^{-7}$  M dentro de ella. En el ribete en cepillo existe una Fosfatasa Alcalina y una Ca,Mg-ATPasa que, se supone, son expresiones de la misma molécula (Isoenzimas); este complejo Fosfatasa Alcalina-Ca,Mg-ATPasa con baja afinidad por el Ca se distingue perfectamente de la ATPasa-Ca dependiente asociada a la membrana basal de las células intestinales. Se ha propuesto que esta Fosfatasa Alcalina también estaría implicada en el transporte del Fósforo (10).

La entrada pasiva de Ca podría estar influenciada por la presencia de canales de Ca, transportadores ionofóricos o el estado de fluidez de los lípidos de membrana. En este mecanismo la Vitamina D actuaría estimulando la entrada de Ca a la célula por modificación de ciertas propiedades de la membrana: por una parte aumentaría la actividad del complejo Fosfatasa Alcalina-Ca-ATPasa y de ciertas proteínas presentes en el ribete en cepillo que se unirían al Ca, y por otro, modificaría ciertas características morfológicas de la membrana del ribete en cepillo. Uno de esos cambios afecta a las cadenas hidrocarbonadas de los fosfolípidos de membrana (11) ya que se incrementa el contenido de Fosfatidil Colina y se modifica el número de residuos acil-poliinsaturados de las cadenas de Fosfatidil Colina.

Una vez dentro de la célula, la Vitamina D produce cambios moleculares por inducción en la síntesis de una proteína

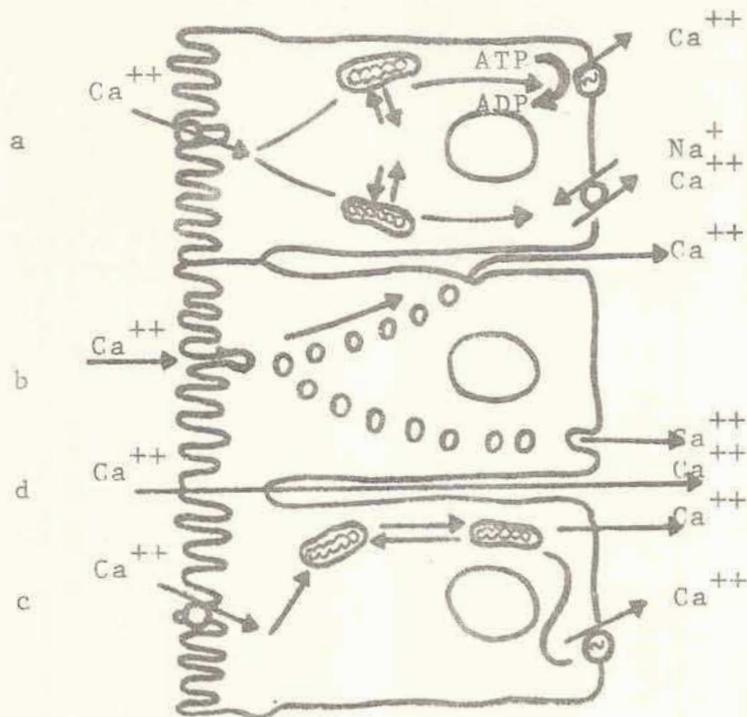


Figura 3

Mecanismos propuestos

Rasmussen, H., Matsumcio, T., Fontaine, O., Goodman, D.B.P (1982)  
 Role of Changes in Membrane Lipid Structure in the Action of  
 1,25dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. Fed. Proc. 41,72.

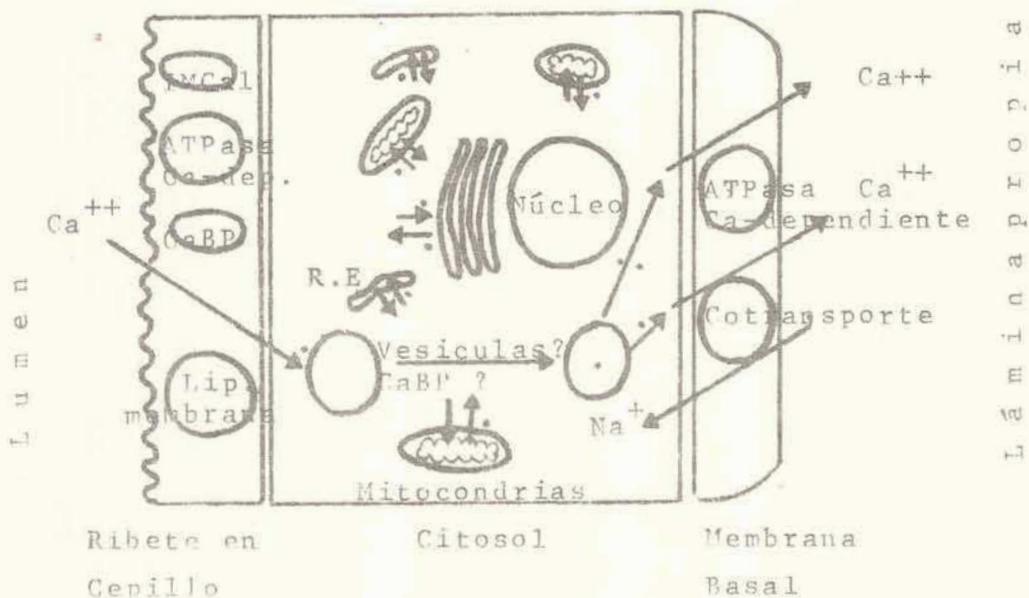


Figura 4

Mecanismo integrativo

Masserman, R.W. and Fullmer, C.S. Calcium Transport Proteins, Calcium Absorption, and Vitamin D. Ann. Rev. Physiol. (1983):45,375.

citoplasmática que liga al Ca (CaBP) y que da lugar a su movimiento transcelular a través de la mucosa intestinal. Dentro de una amplia variedad de circunstancias fisiológicas y nutricionales, la concentración de CaBP en intestino correlaciona directamente con la magnitud del Ca absorbido.

La CaBP es una proteína que tiene una alta afinidad por el Ca y que podría disminuir o prevenir la captación del Ca por las mitocondrias o el retículo endoplasmático, manteniendo durante ese pasaje transcelular el Ca iónico en niveles bajos y no tóxicos para la célula (10).

La salida de Ca, por medio de su transferencia a través de la membrana lateral basal y hacia la lámina propia, se realizaría por un proceso activo en el cual estaría implicado un transporte activo primario (ATPasa Ca dependiente con alta afinidad para el Ca) y/o un contratransporte activo secundario (Fosfatasa dependiente de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$ ); este último produce la salida de Ca por medio de un sistema de intercambio entre ambos cationes. Se supone que el sistema de intercambio sería importante a concentraciones de Ca intracelulares altas, mientras que, la bomba de Ca lo sería a bajas concentraciones de Ca intracelulares (10).

## 2.- REGULACION DE LA ABSORCION DE CALCIO POR FACTORES FISIOLOGICOS Y NUTRICIONALES:

La cantidad de Ca absorbido es al menos función de dos factores: la cantidad de Ca ingerido y la capacidad del individuo de absorberlo o transportarlo. Este último varía con el estado fisiológico, por lo que es lógico que la capacidad absorptiva sea mayor en individuos jóvenes que en adultos y también mayor en individuos en depleción que en bien nutridos(12). La capacidad del intestino para absorber Ca varía como una función inversa de su contenido en la dieta; así cuando la ingesta de Ca es baja el porcentaje de absorción aumenta y viceversa. Este mecanismo de adaptación es Vitamina D dependiente, edad-dependiente, -ya que se adaptan mejor los animales en crecimien

to que los adultos- y está en relación inversa al grado de mineralización del esqueleto. Durante el crecimiento, lactancia, embarazo y en la época de producción de huevos en las aves, existe un aumento importante en la absorción de Ca. Todos estos estados se caracterizan por la presencia de regiones óseas hipomineralizadas, debido al gran aumento en el recambio óseo que tiene lugar y que reduce el tiempo entre la maduración de la matriz y su completa mineralización; se observa, por lo tanto, una mayor fracción de hueso no completamente calcificado. El esqueleto, actúa como un denominador común en todos estos estados que presentan una demanda aumentada de Ca, y sería él, en consecuencia, el responsable del control en la absorción del Ca (13).

### 3.- FACTORES QUE AFECTAN A LA ABSORCION DEL CALCIO:

La absorción del Ca puede estar aumentada o disminuída por distintos factores que la afectan, entre ellos se encuentran:

#### a) Edad:

El porcentaje de absorción de Ca disminuye con la edad, desde la infancia hasta la senectud, pero no es posible diferenciar, si esta continua disminución refleja una adaptación a la dieta o a una disminución en los requerimientos fisiológicos del adulto (14).

A nivel molecular se observa una correlación entre la disminución en el transporte de Ca con la edad y la disminución en el contenido intestinal de la CaBP que podría responder a la disminución de las necesidades en el adulto (15).

#### b) pH intestinal:

Cuando las distintas sales de Ca, en su mayoría fosfatos, penetran en el estómago, debido a la gran acidez, la mayor parte se disocia en sus respectivos iones; éstos, se transfieren al intestino delgado. En el duodeno proximal aún permanecerían disociados, pero, gradualmente, a medida que aumen-

ta el pH en la zona distal, las distintas sales se volverían más insolubles. Por lo tanto, cuanto menos alcalino sea el medio a nivel intestinal mayor será la solubilidad de los fosfatos de Ca y en consecuencia se favorecerá su absorción.

c) Vitamina D:

La Absorción del Ca disminuye en condiciones de deficiencia de Vitamina D y se corrige por administración de la misma. La Vitamina D ejerce sus efectos fisiológicos a través de su metabolito activo, el  $1,25\text{diHOD}_3$ , principalmente sobre el tejido óseo, intestino y riñón, aunque recientemente se han detectado células efectoras en otros lugares del organismo, como ovario y cerebro. (16,17 ).

La Vitamina D puede ser aportada por los alimentos o provenir de la transformación del 7-Dehidrocolesterol de la piel en Colecalciferol o Vitamina  $D_3$  por acción de la luz Ultravioleta. La Vitamina D absorbida o sintetizada, es transportada a hígado donde se convierte en 25-Hidroxi $D_3$ . Este metabolito, que es el que predomina en sangre y tiene efectos fisiológicos discutidos, pasa a riñón donde se hidroxila nuevamente transformándose en  $1,25\text{DiHidroxiD}_3$  o  $24,25\text{DiHidroxiD}_3$ . La síntesis de estos compuestos está regulada por medio de un mecanismo complejo que responde a las necesidades de Ca y Fósforo del organismo. Mientras que en condiciones normales o de hipercalcemia el metabolito principalmente sintetizado es el  $24,25\text{diHidroxiD}_3$ , bajo condiciones de hipocalcemia el riñón produce predominantemente  $1,25\text{DiHidroxiD}_3$ . Ante una caída del Ca iónico plasmático, la Paratiroides segrega PTH la cual actúa sobre las células renales estimulando a la 1,25Hidroxilasa: esta enzima transforma principalmente el 25Hidroxi $D_3$  en  $1,25\text{DiHidroxiD}_3$ . Cuando los niveles séricos del compuesto dihidroxilado son elevados se ejerce un efecto de "feed-back" negativo sobre la enzima, a la vez que se estimula a otra: la 24,25Dihidroxilasa y en consecuencia el metabolito principalmente sintetizado es el  $24,25\text{DihidroxiD}_3$ .

Otra teoría sobre la regulación de la 1,25Hidroxi

lasa renal fue propuesta por DeLuca y Col. (18) debido a que la paratiroidectomía no produce la pérdida en la capacidad del riñón para sintetizar  $1\alpha,25\text{DihidroxiD}_3$  en respuesta a la hipocalcemia, y de que, este metabolito es un estimulador directo de la absorción intestinal de Fosfato. Según dichos autores, el Fósforo inorgánico del suero, y en consecuencia el de las células del túbulo renal, regularía la síntesis de  $1\alpha,25\text{DihidroxiD}_3$  y la PTH podría estimular dicha síntesis alterando los niveles celulares tubulares de Fósforo inorgánico. Este mecanismo fue demostrado trabajando con animales paratiroprivos, alimentados con dietas conteniendo distintas cantidades de Ca y Fósforo, en los cuales ante una dieta deficiente en Fósforo, los niveles de Fósforo inorgánico del suero, y consecuentemente el de las células del túbulo renal, se mantenían en un nivel bajo de Fósforo, observándose lo contrario ante una dieta con elevado aporte de Fósforo. En dichos animales paratiroprivos, cuando la concentración de Fósforo inorgánico del suero disminuía por debajo del nivel normal de 8 mg/100ml. se producía predominantemente  $1\alpha,25\text{DihidroxiD}_3$ , mientras que si dicho nivel se elevaba por encima de 8 mg/100ml. el metabolito principalmente sintetizado era el  $24,25\text{DihidroxiD}_3$ . En base a estos resultados, actualmente se postula que, ante un aumento de Fósforo inorgánico del suero se libera PTH la cual inhibe la reabsorción tubular de Fosfato; disminuyen así los niveles del Fósforo presente en las células tubulares renales y este efecto sería el responsable de la activación de la  $1,25\text{Hidroxi}l\text{asa renal}$ (18).

Otro proceso de regulación de dicha enzima se realizaría a través de las Hormonas sexuales. Durante la lactancia, el embarazo y en la época de producción de huevos en las aves, la absorción de Ca se encuentra aumentada, al igual que los niveles plasmáticos de  $1\alpha,25\text{DihidroxiD}_3$ . Esto ha sido confirmado en las aves en las que es conocido el hecho de que durante la ovulación, las Hormonas sexuales estimulan directa o indirectamente a dicha enzima. Por otra parte, en mamíferos se postula que son los Estrógenos los que estimulan a la  $1,25$

Hidroxilasa renal, basado en el hecho de que en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas se encuentra un aumento en los niveles de  $1\alpha, 25$ Dihidroxi $D_3$  en respuesta al tratamiento con estrógenos sintéticos. Durante la lactancia y el embarazo los niveles del metabolito activo dihidroxilado aumentan de dos a tres veces por encima del valor normal; en este caso también se postula que directamente la Hormona de Crecimiento y/o la Prolactina estimularían a la enzima renal (19).

Los distintos caminos de modulación de la  $1, 25$  Hidroxilasa renal se muestran en la figura 4.

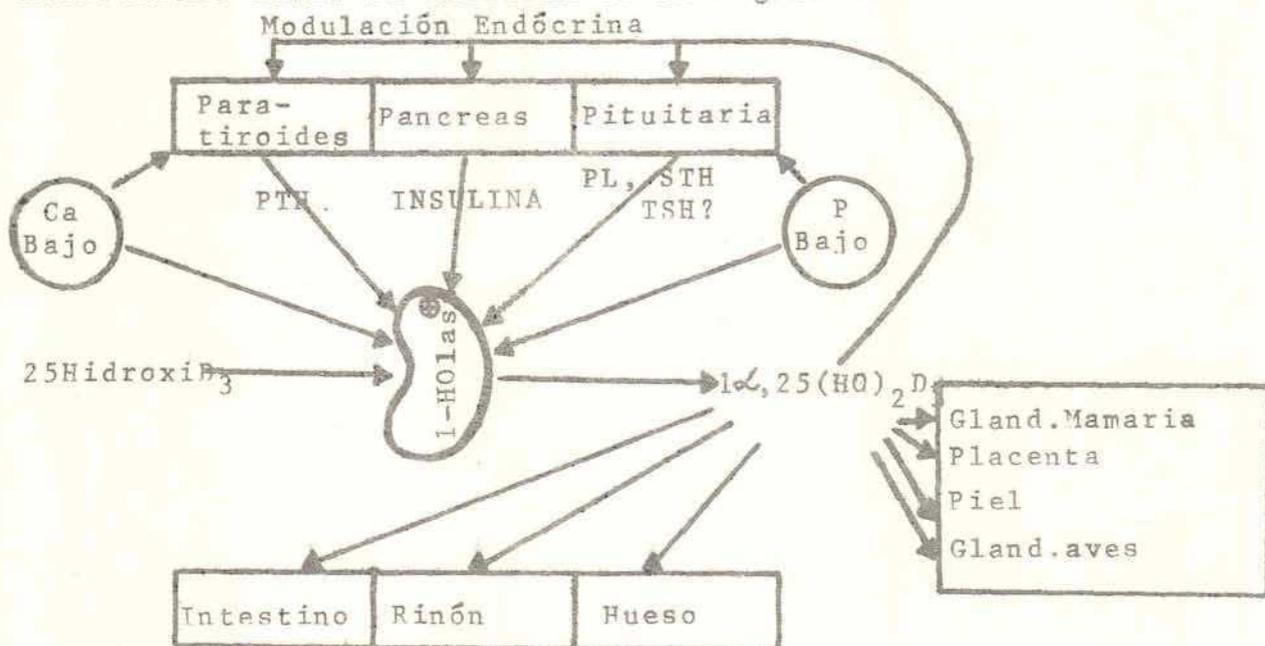


Figura 4

Hausser, M., Pike, J.W., Chandler, J., Manolagas, S. and Deftos, L. Molecular Action of  $1, 25$ Dihydroxvitamin  $D_3$ : New Cultured Cell Model. New Y. Ac. Science Vol. 372, pag. 509 (1981).

d) Proteínas:

La ingestión de adecuadas cantidades de proteínas tiene efectos beneficiosos sobre la absorción de Ca. El transporte intestinal de Ca se ve disminuido en malnutrición y se restaura con la repleción proteica; estos efectos se deberían probablemente a una disminución y a un aumento en la síntesis

de la proteína que liga al Ca (CaBP) en las células intestinales, respectivamente (20,21)

La interrelación entre la absorción de Ca y la ingestión de proteínas es un tema no totalmente aclarado. Mientras que en adultos se observa un aumento en la absorción de Ca con el aumento en la ingesta proteica, en animales en crecimiento no se observa tal efecto (22,23,24).

Algunas características inherentes al tipo de proteínas ingeridas también podrían influir sobre la absorción de Ca, por ejemplo la Caseína -proteína de origen animal, de buena calidad nutricional-presente en la dieta en una cantidad que asegure una nutrición normal, incrementa la absorción de Ca. Según algunos autores esto se debería a la presencia en la misma de una gran cantidad de Fosfopéptidos que forman con el Ca complejos solubles los cuales evitarían su precipitación en la zona distal del intestino delgado (15).

e) Lactosa:

Según algunos autores la Lactosa aumentaría la absorción de Ca debido al desarrollo de una flora intestinal en la que predominarían los Lactobacilos fermentadores de la Lactosa con producción de Acido Láctico, acidificando así el contenido intestinal (25). Para otros, sería una acción directa por formación de complejos que al mantener al Ca en solución evitatarían su pérdida por precipitación (26).

f) Acidos grasos:

La influencia de las grasas de la dieta sobre la absorción de Ca depende del tipo de grasa ingerida. Se han descrito efectos directos, como en el caso de los Acidos Grasos saturados de cadena larga, debido a la formación de jabones de Ca insolubles, o indirectos, por retardar la absorción del Colecalciferol exógeno (27,28).

g) Fósforo o relación Ca/Fósforo de la dieta:

Mediante un mecanismo no totalmente conocido el Fósforo influye sobre la absorción de Ca, ya sea como componente de los distintos Fosfatos o como parte del Fitato.

La presencia de Fosfato en la dieta es esencial para una óptima absorción de Ca (29); evidencias actuales sugieren que, a nivel molecular, bajas cantidades de Fósforo en la dieta, aumentarían la síntesis de la CaBP (30).

Ciertas investigaciones revelaron que la absorción del Ca, expresada como porcentaje del Ca ingerido, disminuye en respuesta a un aumento en la ingesta de Fósforo (14); en cambio, si se expresa la absorción de Ca como cantidad absoluta (Ingerido - Fecal) se encuentra que el agregado de Fósforo no afecta la absorción de Ca en dietas que posean cantidades bajas, normales o altas de Ca.

Si el Fósforo forma parte de la dieta, en cambio, como componente de Fitatos, se observa que a una mayor ingesta se produce una disminución en la absorción de Ca. Estudios experimentales en humanos mostraron que ante dietas normales y equilibradas, la ingestión de Fitato no tiene efecto nutricional alguno (31). Se discute su importancia en dietas predominantemente vegetarianas.

Para su absorción el Fósforo requiere cantidades normales o bajas de Ca en la dieta; concentraciones elevadas de Ca disminuyen la absorción de Fósforo (32).

De lo expuesto se desprende que las interrelaciones entre el Ca y el Fósforo se manifiestan recíprocamente lo que demuestra la importancia de la relación Ca/Fósforo de la dieta.

#### h) Oxalatos y Fitatos:

Ambos interfieren con la absorción intestinal de Ca, disminuyéndola, debido a la formación de sales insolubles (27). El Acido Oxálico está presente sobre todo en los vegetales de hojas verdes y en algunos tubérculos como la remolacha. Otro de los compuestos que inhiben la absorción del Ca presente en los alimentos de origen vegetal es el Acido Fítico, químicamente éster hexafosfórico del Inositol. Este quelaría firmemente al Ca bajo las condiciones imperantes en el intestino delgado. En la mucosa del ileón existe un bajo nivel de Fitasa que cataliza la hidrólisis del Fitato, pero todo aquel que es-

cape a su acción se une al Ca y a otros minerales disminuyendo su absorción (33,34).

i) Fibra de la dieta:

La fibra de la dieta incluye a la fracción de los componentes vegetales que no son degradados en el proceso digestivo. Se supone que la fibra de la dieta interfiere con la absorción del Ca, así como con la de otros minerales, ya que, por un lado acelera el tránsito intestinal y por el otro adsorbe minerales sobre sus componentes (35).

j) Floruro:

El Floruro de Sodio disminuye la absorción de Ca por la formación de Floruro de Ca insoluble (36); sin embargo, la presencia de este anión tiene una importancia nutricional secundaria sobre la absorción de Ca. Aún con ingestas del orden de 100 mg (cifra máxima que se administra a los pacientes osteoporóticos) significarían la disminución de menos de un 10% de la cifra de ingesta recomendada para Ca por los organismos internacionales. Este valor se reduciría a menos del 1% en las zonas donde se consume agua conteniendo Floruro en forma natural.

k) Magnesio:

Los resultados sobre la influencia del Mg en la absorción de Ca son controvertidos y dependen de las condiciones experimentales en que se haya realizado el estudio. Así, mientras algunos autores detectan un aumento en la absorción de Ca por el Mg, otros no encuentran tal efecto (27, 37).

l) Acidos Cítrico y Ascórbico:

Estos compuestos son agentes quelantes que forman complejos solubles con el Ca. En consecuencia, al mantener el Ca en solución en el tracto gastrointestinal, aumentan su biodisponibilidad (38).

#### 4.- CALCIO EN LOS FLUIDOS CORPORALES.

La concentración plasmática de Ca, debido a su regu-

lación endócrina, se mantiene prácticamente constante dentro de un rango de concentraciones muy estrecho: 2.3 a 2.8mM, con una media de 2.5mM, a pesar de grandes variaciones en la ingesta.

Como ya se mencionó, el Ca plasmático se encuentra en tres formas diferenciables (39):

- a) Ca iónico: constituye la fracción más importante del plasma (47.5%) y es la forma en que el elemento ejerce sus efectos fisiológicos.
- b) Ca no difusible a través de la membrana capilar: constituye el 46% del total y se encuentra en su mayor parte unido a proteínas plasmáticas no específicas, particularmente Albúmina.
- c) Ca difusible: corresponde al 6.5% restante y constituye el Ca plasmático no ionizado, bajo la forma de complejos con aniones orgánicos, como el Citrato o inorgánicos, como el Fosfato y Bicarbonato.

Los valores plasmáticos permanecen constantes debido a la acción reguladora de por lo menos dos hormonas, una hiper y la otra hipocalcemiante: PTH y CT respectivamente. Cuando se extraen las Paratiroides los niveles plasmáticos caen y se estabilizan en 1.5mM aproximadamente; pero en esta situación variaciones en la ingesta de Ca pueden producir grandes variaciones en el Ca plasmático. Cuando los niveles de Ca suben a valores superiores a 2.8mM, la glándula Tiroides produce la liberación de un factor hipocalcemiante, la CT, que restituye el nivel plasmático de Ca a sus valores normales. El efecto principal de esta última hormona sería la de mantener el nivel plasmático ante el gran aporte de Ca producido en la etapa postprandial.

El Ca plasmático representa el llamado "pozo metabólico". El Ca del LEC está en continuo intercambio con el tipo de hueso llamado "intercambiable". En caso de hipocalcemia, se ponen en juego distintos procesos de regulación para restituir los valores plasmáticos a sus niveles normales (Figura 5), pasa Ca del hueso a la sangre y disminuye así la fracción plasmática de Ca difusible; estos procesos forman parte de la regulación

físico-química independiente de la Paratiroides. Otro mecanismo de regulación es el bioquímico que se relaciona con el Ca del hueso intercambiable o "profundo" y que sí depende de la PTH, Vitamina D y CT.

Los mecanismos de regulación bioquímica del Ca sérico pueden esquematizarse mediante el "modelo de la mariposa" que se muestra en la figura 5. En el mismo, cada lóbulo representa a un órgano; del lado izquierdo se encuentran los factores que tienen a aumentar el Ca plasmático, mientras que del lado derecho todos aquellos que tienden a disminuirlo. Ante una disminución del Ca iónico del plasma -o bien un aumento del Fósforo inorgánico plasmático-, la PTH se libera al medio, en tejido óseo activa la producción de osteoclastos que lo degradan liberando el Ca junto al Fosfato y Bicarbonato al LEC. La PTH en las células renales activa la producción del metabolito activo de la Vitamina D, el cual actuando conjuntamente con la PTH aumenta la resorción ósea, pero disminuyendo la síntesis de Colágeno (40). Inversamente, ante un aumento del Ca plasmático, como ocurriría en el período postprandial, la Tiroides segrega CT que restituye los niveles plasmáticos a su valor normal.

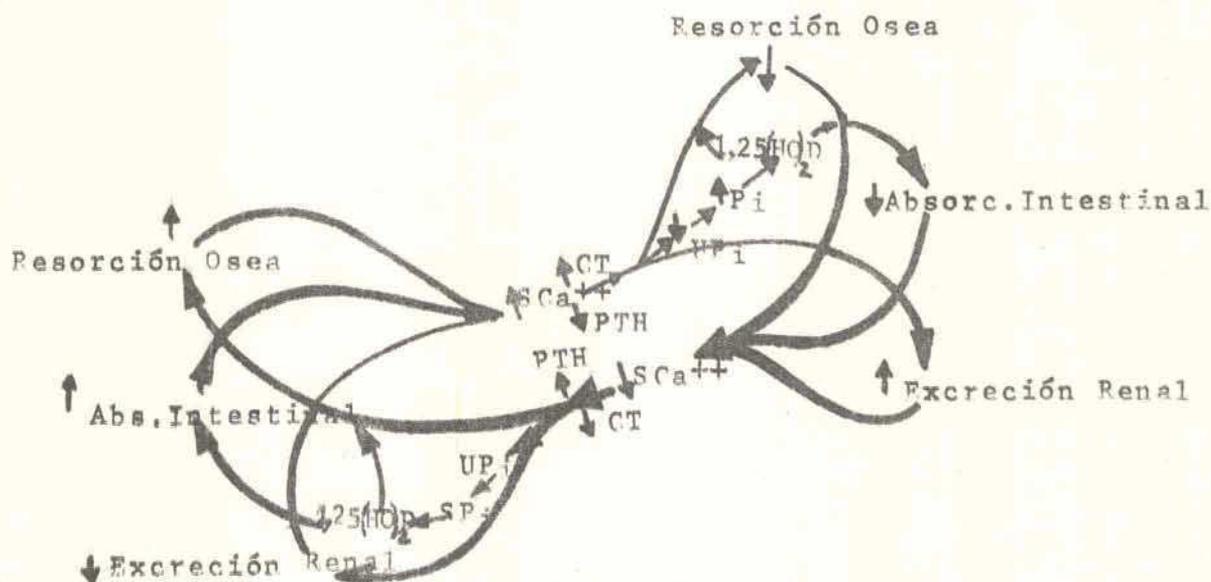


Figura 5  
"Modelo de la Mariposa"

Arnaud, C.D. Calcium homeostasis: Regulatory elements and their integration (1978). Fed. Proc. 37 (12), 2557.

## 5.- EXCRECION CALCICA

### 5.1 CALCIO URINARIO:

El Ca en orina proviene del Ca plasmático, que filtra por glomérulo y no es reabsorbido a lo largo del nefrón, junto al excretado por movimientos transtubulares en ciertas regiones del nefrón (41).

El Ca se reabsorbe a lo largo del nefrón en los túbulos proximal y distal; su reabsorción es paralela a la de  $\text{Na}^+$ , excepto en casos de gran hipercalcemia. En el túbulo proximal la relación entre la concentración tubular y la plasmática es constante y aproximadamente cercana a la unidad. En el distal esta relación es de 0.5, lo cual sugiere que una gran proporción del Ca filtrado es reabsorbido en el Asa de Henle (8).

La mayor parte de la reabsorción de Fosfato ocurre en el túbulo proximal, la que se relaciona no sólo con la reabsorción de  $\text{Ca}^{++}$ , sino también con la de  $\text{Na}^+$  y Bicarbonato. Para el Fosfato existe un  $T_m$  que se correlaciona con la velocidad de filtración glomerular (GFR) y donde la relación  $T_m/\text{GFR}$  refleja la capacidad teórica máxima de reabsorción tubular.

El 99% de la carga filtrada de Ca se reabsorbe aún en ausencia de Vitamina D o PTH; pero el 1% restante está bajo el control de la PTH y posiblemente de la acción de la Vitamina D.

En el túbulo distal la reabsorción de Ca se estimula por acción de la PTH, mientras que en el proximal, esta hormona reduce no sólo la reabsorción de Ca, sino también la de  $\text{Na}^+$ , Fosfato y Bicarbonato. Para el Ca predomina su acción sobre el túbulo distal y en consecuencia, como resultado se disminuye la calciuria y se incrementa la fosfaturia (8). Se supone que el efecto de la PTH sobre los flujos iónicos es parte de una adaptación a la formación del hueso, ya que el Bicarbonato y el Fosfato se liberan conjuntamente durante la movilización de Ca del mismo. A nivel molecular, el efecto de la PTH se produce

cuando, al igual que otras hormonas proteicas, se une a un receptor de membrana, estimulando a la Adenilato Ciclasa la que aumenta la concentración intracelular de  $AMP_c$ ; éste actuaría como segundo mensajero, pero también lo haría como un ionóforo para el Ca, estimulando directamente su entrada a la célula.

La excreción de  $Ca^{++}$  así como la de  $Na^+$  y Fosfato se incrementa por acción de la CT; ésta, al igual que la PTH, actuaría a nivel molecular incrementando la concentración de  $AMP_c$  (8).

En el túbulo proximal la reabsorción de  $Ca^+$ , conjuntamente con la de  $Na^+$  y Fosfato aumenta por acción tanto de la Vitamina D como la de sus metabolitos activos (8).

Al igual que la absorción de Ca, su eliminación renal está influenciada por diversos factores. Para un mismo individuo, existen diariamente variaciones en el Ca urinario que podrían reflejar cambios en la ingesta (42). Existe también un ritmo circadiano, con la mayor eliminación durante el día y la menor a medianoche. Si bien existe gran variabilidad individual, la excreción urinaria se incrementa con la edad durante el crecimiento y es mayor en hombres que en mujeres. Estos hechos se podrían explicar a través de diferencias en el tamaño corporal (42).

Numerosos investigadores observaron un aumento en la excreción urinaria de Ca al aumentar la ingesta proteica. En adultos, dicho incremento puede llevarlos a balances negativos de Ca y se postula que si se produce durante un tiempo prolongado podría ser causa de Osteoporosis (22,43-45). En niños es muy probable que este efecto no se produzca porque aún con ingestas proteicas muy elevadas, la eliminación urinaria es insignificante con respecto a la magnitud del Ca absorbido.

El mecanismo propuesto para la hipercalciuria por aumento en la ingesta proteica, en adultos, es un aumento en la producción de ácidos metabólicos, como Sulfato, proveniente de la oxidación de Metionina y Cisteína (46). Esta hipótesis se confirmaría por el hecho de que las distintas proteínas difieren en sus propiedades calciuréticas y esas diferencias se co-

rrelacionan con su contenido en aminoácidos azufrados. Se postula que este efecto se debe principalmente a una disminución de la reabsorción tubular renal del Ca, así como a un aumento en la velocidad de filtración glomerular, sin cambios en los niveles séricos de PTH,  $1\alpha,25$ DihidroxiD<sub>3</sub> o Ca ultrafiltrable (47).

El efecto de la ingesta proteica sobre el Ca urinario fue en principio confundido con el que se produce cuando se consumen dietas con relaciones Ca/Fósforo variables. Así, el aumento en la ingesta de Ca sin un aumento proporcional en la ingesta de Fósforo (Ca/Fósforo alta), se refleja en una mayor excreción de Ca urinario; inversamente, un aumento en la ingesta de Fósforo sin el correspondiente aumento en la de Ca (Ca/Fósforo baja) produce una disminución en la eliminación urinaria de Ca. El efecto de la relación Ca/Fósforo es mucho mayor sobre el Ca urinario que sobre la retención de Ca y se postula que ésta última depende más de la ingesta de Ca que de la relación Ca/Fósforo de la dieta (42).

La deficiencia de Vitamina A disminuye marcadamente el Ca urinario, el cual se restaura rápidamente cuando se suministra Retinol. Este efecto podría deberse a que, ante su falta, se producen alteraciones en la Glándula Tiroides en el sitio de secreción de la CT (48).

Entre los minerales que afectan la excreción urinaria de Ca se encuentran el Na, F y Mg. En adultos se observó una relación directa entre el Ca urinario y el Na urinario, cuando se variaba la ingesta de ClNa. Por otro lado, mientras algunos autores encontraron una disminución del Ca urinario con el aumento en la ingesta de FNa, otros no confirmaron tal hallazgo. Finalmente, el aumento en la ingesta de Mg, manteniendo el resto de la dieta constante, produce una mayor retención de Ca asociada con el aumento en el Ca urinario y una disminución en la excreción fecal (49).

## 5.2 CALCIO FECAL

Como ya se mencionó, el Ca de las heces está constituido por el no absorbido proveniente de los alimentos y por el llamado "Ca fecal endógeno" (41). Su valor se ve influenciado por los factores que alteran la absorción de Ca (ver ítem 3, página 9 ).

## 5.3 OTRAS VIAS DE EXCRECION

Paupe estudió la eliminación de Ca por sudor en individuos de diferentes edades -desde la lactancia hasta la edad adulta- obteniendo una media de aproximadamente 100 mg/l, sin diferencias significativas al variar la edad de los sujetos (50).

En cuanto a las pérdidas dérmicas, se postula que son insignificantes con un valor de  $15.4 \pm 10.8$  mg/día, cuando los estudios de balance son realizados en condiciones de actividad mínima y temperatura ambiente correspondiente a climas templados. (51).

El Ca también se encuentra presente en la secreción láctea, donde su contenido varía de una especie a otra (52):

Humano	33 mg/dl
Vaca	125 mg/dl
Rata	268 mg/dl

## 6.- TEJIDO OSEO

### 6.1 GENERALIDADES:

Debido a que el tejido óseo es el tema que más relación guarda con los aspectos experimentales de este trabajo, será tratado en mayor profundidad.

Las dos funciones más importantes del esqueleto son: a) la de soporte mecánico del cuerpo y b) la participación en la homeostasis mineral, fundamentalmente de Ca y Fósforo.

El hueso no es un tejido inerte, sino que está en continuo movimiento de formación, resorción y remodelación. Si bien existen distintos tipos de huesos (cortical, esponjoso, etc.), la mayor información sobre la naturaleza del tejido

do óseo, deriva de estudios sobre los huesos largos.

## 6.2 COMPOSICION:

El hueso está formado por una matriz ósea de naturaleza predominantemente orgánica, cristales inorgánicos, componentes celulares y agua. También se encuentran presentes vasos sanguíneos y linfáticos, terminales nerviosas y médula ósea.

### 6.2.1 AGUA:

Se encuentra en proporciones variables según la edad del hueso, formando capas de hidratación alrededor de los cristales. Su contenido disminuye desde un 60% en el hueso joven recién formado, hasta un 10% en el senil; esta disminución implica que, durante el proceso de calcificación, el crecimiento del cristal óseo se realiza a expensas del agua.

### 6.2.2 FRACCION MINERAL:

El material inorgánico constituye aproximadamente una cuarta parte del volumen del hueso. Está formado por cristales impuros de Fosfato de Ca que presentan por difracción con Rayos X un patrón similar a los cristales de apatita. La relación Ca/Fósforo en el mismo varía desde 1.3 en los primeros estadios, hasta 2.0 en las etapas más avanzadas de la calcificación. Su composición incluye grupos Hidroxilos, una cantidad variable de Carbonato y otros aniones como Fluoruro y Citrato. En cuanto a los cationes, además del Ca, contiene una gran parte del  $Mg^{++}$  corporal, el 25% del  $Na^{+}$  y una pequeña fracción del  $K^{+}$ .

### 6.2.3 MATRIZ ORGANICA:

Está compuesta en un 90% aproximadamente por Colágeno, proteína rica en Glicina, Prolina, Hidroxiprolina e Hidroxilisina. Estos dos últimos aminoácidos no son incorporados como tales a la proteína, sino como Prolina y Lisina, siendo posteriormente hidroxilados en los microsomas por un proceso

que requiere de Vitamina C y Cu. Entre las fibras colágenas se encuentra una sustancia fundamental amorfa, constituida por proteínas no colágenas unidas a dos mucopolisacáridos: el Acido Hialurónico y el Condroitín Sulfato. También existen varias proteínas de naturaleza no colágena, dispuestas sobre las fibras de Colágeno o en el espacio interfibrilar, entre las que se encuentran dos importantes pequeñas proteínas: la Osteonectina y la Osteocalcina.

La Osteonectina contiene una gran cantidad de residuos de Acidos Glutámico y Aspártico, Serina y Serina Fosfato. Se supone que, de los polipéptidos aniónicos o de la Serina Fosfato dependería la capacidad de calcificación del tejido. La Osteocalcina es una pequeña proteína que contiene tres residuos de Acido Carboxiglutámico. Estos residuos se sintetizan a partir del Acido Glutámico a través de una reacción enzimática post-translacional que requiere la presencia de Vitamina K y Bicarbonato. Esta proteína cumpliría un rol similar al de la Protrombina en sangre; se ha propuesto que los residuos carboxilados del Acido Glutámico serían necesarios para que la proteína se ligue a vesículas de Fosfolípidos en presencia de iones Ca formando sales insolubles de Fosfato de Ca.

El volumen total del hueso está ocupado por tres espacios: uno constituido por moléculas de Colágeno "sólidas", mientras que los otros constituyentes forman los espacios intra y extrafibrilar, en los siguientes porcentajes:

Colágeno	29.0%
Espacio intrafibrilar	51.5%
Espacio extrafibrilar	19.5%

Las proteínas no colágenas y el agua se intercambian entre ambos espacios y aunque el mineral óseo puede ocupar cualquiera de ellos, el 80% aproximadamente es de naturaleza intrafibrilar.

#### 6.2.4. VESICULAS EN LA MATRIZ:

Entre las fibras de Colágeno se encuentran presentes pequeñas vesículas extracelulares constituidas probable-

mente a partir de derivaciones citoplasmáticas de los componentes celulares óseos. En ellas comenzaría el proceso de calcificación.

#### 6.2.5 COMPONENTES CELULARES:

El téjido óseo está formado por tres tipos de células: Osteoblastos, Osteocitos y Osteoclastos.

OSTEOCLASTOS: Están involucrados en el proceso de resorción del hueso. Proviene de un Preosteoclasto por diferenciación de los Monocitos. El Osteoclasto es una gran célula móvil que está ubicada entre el hueso por un lado y el sistema vascular por el otro. Dicha célula posee varios núcleos que no se dividen y que están rodeados por aparatos de Golgi, así como numerosas mitocondrias dispersas por todo el citoplasma. Cuando está adosada al hueso, existe entre él y la célula, una porción de citoplasma libre de organelas que posee un borde rugoso, aumentando así el área de contacto entre ambos. Se ha demostrado que allí se concentra la mayor actividad celular.

El Osteoclasto contiene una gran cantidad de enzimas, entre las que se encuentran Lisozimas y Colagenasas. De las primeras la más importante es la Fosfatasa Acida, cuya concentración en hueso varía directamente con la velocidad local de resorción; su actividad aumenta en presencia de PTH y decrece en presencia de CT. Los osteoclastos presentan, además, vacuolas citoplasmáticas que contienen en su interior cristales óseos lo cual provee evidencia sobre la digestión intracelular del hueso. Una vez cumplida su función de resorción los Osteoclastos mueren.

OSTEOBLASTOS Y OSTEOCITOS: Proviene de una célula mesenquimatosá que evoluciona por un lado hacia Fibroblasto y por el otro hacia Preosteoblasto, precursor del Osteoblasto; este último a su vez es precursor del Osteocito. Cuando el Osteoblasto comienza a rodearse de matriz ósea se denomina arbitrariamente Osteocito y, a diferencia del Osteoclasto que una vez

cumplida su función muere, los Osteocitos pueden transformarse nuevamente en blastos. Anteriormente se pensaba que el Osteocito sólo participaba en la formación ósea, pero, actualmente se sabe que también lo hace en la resorción.

Existen tres tipos de Osteocitos: 1) Tipo Osteoblasto u Osteocito Osteogénico; 2) Tipo Osteolítico u Osteocito Osteolítico y un 3<sup>a</sup> grupo que comprende menos del 10% de la población total, presente en células picnóticas. El Osteocito Osteolítico se parece estructuralmente al Osteoclasto, pero no presenta borde rugoso. Comparándolo con los Osteocitos Osteogénicos contiene más mitocondrias, lisosomas y vesículas citoplasmáticas, pero menos retículo endoplasmático rugoso y aparatos de Golgi. También contienen una gran cantidad de enzimas, entre las que pueden mencionarse las Fosfatasas Alkalinas, Fosfatasas Acidas, Pirofosfatasas Inorgánicas, Proteasas, Hidrolasas Acidas, Anhidrasa Carbónica y Lisozimas.

### 6.3 FORMACION OSEA:

En principio se postulaba que el producto de  $Ca^{++}$  por Fosfato plasmático era crítico para la mineralización y que la precipitación se debía a la existencia de un factor celular activo. Esta hipótesis se basaba en que los fluidos corporales se hallan sobresaturados respecto de los cristales de apatita, pero infrasaturados respecto del Fosfato de Ca intracelular. Sin embargo, experiencias posteriores "in vitro" demostraron que, en realidad, ese producto no tiene mayor efecto. Se ha observado en cambio que, cuando se eliminan del medio los inhibidores de la calcificación, para cualquier producto de Ca por Fosfato plasmático, existe una organela extracelular o un catalizador de nucleación que acelera la velocidad de formación de Fosfato de Ca y controla la mineralización en espacio y tiempo (8).

Experiencias posteriores demostraron que la relación Ca/Fósforo del medio tiene un efecto directo sobre la mineralización y que los niveles de Ca iónico en los fluidos extracelulares del hueso serían controlados por una membrana

funcional tisular ósea, que regularía y disminuiría el producto de Ca por Fosfato del medio extracelular. Este último hecho se apoya en ciertas observaciones realizadas sobre tibias de pollo rotas o enteras, en las cuales, al aumentar la concentración de Ca y Fosfato en el medio de incubación, la mineralización fue más intensa en las tibias rotas que en las enteras. A pesar de esto, dicha membrana no ha podido definirse en términos anatómicos, bioquímicos o fisiológicos (53).

Para que comience la calcificación es necesario que la matriz no calcificable se transforme primeramente en calcificable. Este proceso ocurre tanto por reacciones enzimáticas como químicas. La secuencia de eventos que se traducen en dicha transformación no se conocen, pero existen dos teorías totalmente opuestas:

- 1) Una de ellas postula que, el Fosfato se une primeramente al Colágeno iniciando así la calcificación. Experiencias "in vivo" con  $^{45}\text{Ca}$  y  $^{32}\text{P}$  demostraron que esta teoría es imprecisa, ya que sólo cuando la captación de Ca precede a la de Fosfato, la matriz se transforma en calcificable; por otra parte, la calcificación no ocurre si la captación de Fosfato, aún en grandes cantidades, precede a la de Ca (54).
- 2) La otra teoría, aceptada actualmente, se basa en que el Ca iónico se une a una Glicoproteína no colágena y como resultado de esa unión, cambia la configuración proteica dando lugar a microcompartimentos en los que se produciría posteriormente la deposición de Fosfato de Ca. El resultado final sería la formación, dentro del tejido, de un sitio de nucleación constituido por un complejo tripartito de proteína-ión metálico-anión.

Estas evidencias se obtuvieron analizando la variación en el contenido de Ca, Fósforo y Nitrógeno del hueso, en osteones aislados en tres diferentes estadios de la mineralización -premineralización, el más bajo nivel de postminerali-

zación y el más alto nivel de densidad mineral-. A lo largo del proceso, o sea entre el comienzo y el final de la mineralización, existe una disminución del 82% del Nitrógeno no colágeno, con una disminución paralela de Fósforo; los Mucopolisacáridos disminuyen sólo el 29%, mientras que el contenido de Colágeno permaneció prácticamente constante a través de todo el proceso. Estas observaciones llevaron a la hipótesis de que, el eflujo de proteínas no colágenas prepararía el medio para el influjo de Ca, Fosfato y otros iones que formarían el Fosfato de Ca amorfo, el que posteriormente sufrirá la cristalización.

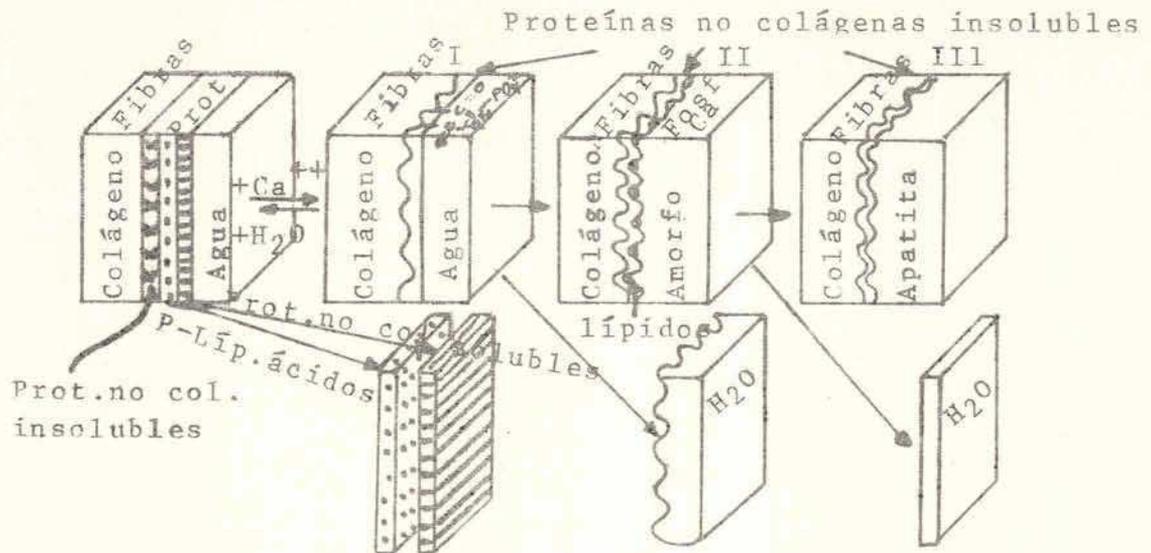
A la luz de los conocimientos actuales se propone que los principales pasos en la evolución ósea son:

a) Depósito inicial de una fase amorfa, lábil, de complejos de Fosfato Acido de Ca, con relaciones Ca/Fósforo variables, sumamente hidratado, dentro de organelas especializadas, tales como la matriz mitocondrial o de vesículas extracelulares, formadas por derivaciones de la membrana plasmática. Cuando las enzimas lisosómicas degradan las membranas, los gránulos se liberan al medio, el Fosfato de Ca pasa por estados de hidratación menores y se convierte en precursor de los microcristales de Apatita extracelular.

b) Transformación de una sal no cristalina en finos cristales de Apatita que contienen una cantidad inespecificada de grupos Carbonato. Estos grupos se localizan dentro de la estructura cristalina organizada, ya sea por la adición de Carbonato de Ca al Fosfato Tricálcico hidratado, por la sustitución de Carbonato por Fosfato o por el reemplazo de grupos Hidroxilos.

c) Crecimiento en tamaño y perfeccionamiento de los microcristales.

La representación gráfica del mecanismo trifásico de conversión de la matriz ósea no calcificable en calcificable así como los depósitos de los microcristales de Apatita se esquematizan en la figura 6.



Conversión de la matriz no calcificable en calcificable  
 Bourne, G. (1976). The Biochemistry and Physiology of Bone. Vol. 4 pag. 24.

Figura 6

### 6.3.1. ENZIMAS QUE PARTICIPAN EN LA FORMACION OSEA:

En Preosteoblastos y Osteoblastos existen Fosfatasas Alcalinas, las que se encuentran también presentes en las vesículas de la matriz que contienen gránulos de Fosfato de Ca. Su actividad no correlaciona con la calcificación "per se", ya que es incapaz de producir la ruptura del enlace P-C-P presente en los Difosfonatos, poderoso inhibidor no fisiológico de la mineralización. En cambio, las Fosfatasas Alcalinas cumplen una importante función en la síntesis de grandes cantidades de matriz no calcificable y en el desarrollo general del tejido esquelético, debido a su participación en el metabolismo anaeróbico o aeróbico de los Carbohidratos.

En Condrocitos y cartilago calcificable existen Fosfatasas Acidas, relacionadas con la síntesis de proteínas y que se encuentran localizadas intracelularmente en los lisosomas. Su acción se asocia tanto a la formación como a la degradación de matriz y se postula que esta función dual podría deberse al accionar de diferentes isoenzimas. Su actividad disminuye desde la matriz intra a la extracelular, lo que

sugiere su intervención en la modificación de macromoléculas en la misma.

Dentro de vesículas citoplasmáticas se ha detectado actividad de Pirofosfatasas, cuya función sería la de controlar y estabilizar el proceso de mineralización. Este proceso de mineralización correlaciona mejor con la actividad de Pirofosfatasas Inorgánicas que con la de Fosfatasas Alcalinas, debido a que, las primeras poseen actividad al pH fisiológico, mientras que las Fosfatasas Alcalinas requieren de un pH de 9.6 y además, el Pirofosfato "per se" inhibe la transformación de Fosfato amorfo a cristalino.

Otras enzimas presentes son las Proteolíticas de diversos orígenes, entre ellos lisosomales que degradan al cartílago, a los proteoglicanos óseos, así como a las proteínas de naturaleza no colágena, dando lugar a espacios dentro de la matriz para la formación de microcristales de apatita.

En la región metafiseal del tejido óseo se encuentra localizado un sistema secretorio de Anhidrasa Carbónica. Por micropunción del fluido del cartílago se observa que el mismo tiene un pH de  $7.58 \pm 0.05$ , mientras que el pH arterial es de  $7.38 \pm 0.04$ . Este pH elevado en el fluido del cartílago por un lado, y la alta actividad de Anhidrasa Carbónica en las áreas adyacentes por el otro, sugieren que las superficies en mineralización estarían totalmente cubiertas por la membrana a la que se hizo referencia en el ítem 5.3 de la página 25, sobre Formación Osea. Esta membrana regularía el flujo de iones así como los procesos metabólicos celulares. Recientemente se han presentado evidencias teóricas y experimentales de la función de tal membrana sobre la interfase del fluido intersticial óseo (55).

También se encuentran presentes Lisozimas que son macromoléculas proteicas de naturaleza básica sintetizadas por los Condrocitos en grandes cantidades, en la zona hipertrófica de la calcificación. Su localización en el cartílago es extracelular y principalmente en la vecindad de los Condrociti-

tos. Se postula, que su acción sería similar al de la Hialuronidasa, y en consecuencia, al activar la proteólisis de los Proteoglicanos permitiría el comienzo de la mineralización. Además, se postula que su efecto neto sería el control del proceso de agregación de los cristales de Apatita (56).

#### 6.3.2 INHIBIDORES DE LA CALCIFICACION:

Existen inhibidores biológicos y no biológicos de la calcificación que pueden interferir tanto con la transferencia de Ca a través de las membranas como bloquear el crecimiento cristalino. En dosis tóxicas, ciertas sustancias biológicas se comportan como inhibidores no biológicos.

Cada grupo de inhibidores tiene su propio mecanismo de acción. Así por ejemplo, inhibidores metabólicos tales como Iodoacetato, Fluoruro, Cianuro, Dinitrofenol y Be podrían inhibir procesos dependientes de energía, tales como la acumulación o liberación de Fosfato de Ca; el Azul de Metileno inhibe el crecimiento cristalino; los péptidos previenen la conversión de Fosfato de Ca amorfo a cristalino; metales tales como, Be, Sr, Cd, Mg, Co y Mn inhiben la calcificación por diferentes caminos; macromoléculas tales como polisacáridos proteicos y Heparina bloquean tanto la formación de un núcleo como el crecimiento del cristal; el Pirofosfato, así como los Fosfatos condensados de cadena larga, previenen tanto el crecimiento como la conversión de Fosfato amorfo a cristalino (57).

#### 6.4 RESORCION OSEA:

La resorción ósea produce la remoción, tanto de los componentes orgánicos como inorgánicos del hueso. Por mucho tiempo se pensó que los Osteoclastos eran las únicas células encargadas de la resorción, pero actualmente se sabe que, en dicho proceso participa también una población de Osteocitos llamados "Osteocitos Osteolíticos",

Mientras que en el interior del hueso son los Osteocitos Osteolíticos los encargados de realizar la resorción, en la superficie ósea u osteón, el proceso es realizado

por los Osteoclastos. Esto significa que dichas células cumplen roles distintos; los Osteoclastos, por ser células superficiales contribuyen a remodelar al hueso para que el esqueleto cumpla su función de soporte mecánico. Por otra parte, los Osteocitos Osteolíticos que son más numerosos y se encuentran en contacto con mayor área de superficie son capaces de volcar gran cantidad de mineral al fluido extracelular, y en consecuencia, se relacionan más directamente con la función primordial que tiene el esqueleto de regular la homeostasis mineral.

#### 6.4.1 RESORCION OSTEOCLASTICA:

Este tipo de resorción se inicia y está limitada, sólo a la región altamente especializada del Osteoclasto: el borde rugoso. Este se encuentra limitado a ambos lados por un collar de citoplasma que da lugar a una zona clara, cuya función es la de proteger a las estructuras adyacentes de la resorción.

Estudios de microscopía electrónica han demostrado que en el área de resorción por Osteoclastos no existe exceso de Colágeno ni de mineral óseo; sobre esta base se ha postulado que la remoción en este caso es simultánea.

A nivel celular la resorción consta, al menos, de dos fases: 1) Fase sintética y 2) Fase resortiva. El mecanismo de resorción tiene lugar cuando enzimas lisosomales y Colagenasa, sintetizadas en el retículo endoplasmático rugoso, se transportan al aparato de Golgi, que rodea a uno de los núcleos, y se guardan en vesículas secretorias; éstas se trasladan hacia el borde rugoso donde vuelcan su contenido. Las Colagenasas comienzan la ruptura del Colágeno mientras que las enzimas lisosomales dan lugar a péptidos menores. Al mismo tiempo, los Osteoclastos producen Acidos Cítrico y Carbónico que se concentran en dicha zona y proveen el medio óptimo, tanto para la disolución del mineral como para la actividad de los enzimas lisosomales. Los productos iniciales de la resorción (cristales y fragmentos de colágeno) se transportan al interior de la célula por formación de vesículas que posterior-

mente se degradan en lisosomas secundarios. Los minerales, péptidos, polipéptidos ricos en Hidroxiprolina y otros productos se liberan al lecho vascular, en la posición opuesta de la célula. La acumulación de minerales, como gránulos dentro de la matriz mitocondrial proveería una ruta alternativa o temporaria para el depósito de cantidades excesivas de Ca y Fosfato intracelular. La energía necesaria para todo el proceso de síntesis y transporte sería provista por las numerosas mitocondrias presentes (58).

#### 6.4.2 RESORCION OSTEOLITICA:

Los Osteocitos forman una población heterogénea involucrada tanto en la resorción como en la formación ósea. La resorción por Osteocitos se llama "Osteólisis" para diferenciarla de la resorción Osteoclástica.

La Osteólisis involucra la elaboración de una Proteasa y de otras enzimas necesarias para el proceso. El mecanismo de acción no se conoce exactamente, aunque se presume que podría ser similar al que ocurre en Osteoclastos, con la diferencia de que, debido a la ausencia del borde rugoso, la actividad resortiva se extendería a toda su superficie. La presencia de restos de Colágeno dentro de vesículas citoplásmicas sugiere que, a diferencia de lo que ocurre con los Osteoclastos, la degradación de la matriz precede a la del mineral.

El transporte de los productos de resorción hacia la sangre se realiza por medio de comunicaciones intercelulares entre los Osteocitos dentro del hueso y los Osteoblastos sobre la superficie. Este hecho fue confirmado por varios autores quienes observaron la fusión de las membranas de una y otra célula.

La diferencia entre la Osteólisis y la resorción Osteoclástica explicaría el hecho de que, algunos investigadores hablen de una resorción simultánea, mientras que otros encuentran primero remoción de la matriz y luego del mineral (58).

#### 6.4.3. ENZIMAS QUE PARTICIPAN EN LA RESORCION OSEA:

La concentración de Fosfatasa Acida en hueso es alta y varía directamente con la velocidad local de resorción. En hueso, las Fosfatasas Acidas parecen ser al menos dos enzimas, probablemente isoenzimas: una Fenil-fosfatasa Acida y una B-Glicero-fosfatasa Acida, las cuales presentan diferente sensibilidad a inhibidores de la calcificación. Mientras que en Osteoclastos se ha detectado actividad de B-Glicero-Fosfatasa Acida, se presume que es la Fenil-Fosfatasa Acida la que se encuentra presente en los Osteocitos Osteolíticos.

En Osteoclastos se encuentra una Colagenasa que se secreta en forma de proenzima inactiva y que posteriormente es activada por la acción enzimática de la Tripsina o enzimas lisosomales. La Colagenasa ataca al Colágeno en un único sitio cerca del amino terminal preparando al sustrato para la degradación final por Proteasas.

Como se mencionó en el ítem 5.4.1, en la resorción ósea se producen Acidos Cítrico, Carbónico y Láctico. La concentración de Citrato se relaciona directamente con el nivel de resorción y su formación en Osteoclastos es debido a la ausencia de una Isocítrico Dehidrogenasa. La Anhidrasa Carbónica cataliza la reacción reversible de hidratación del Dióxido de Carbono, y produce Acido Carbónico. La acumulación de estos ácidos dentro de los Osteoclastos, particularmente en la zona del borde rugoso, proveería el medio adecuado para la óptima actividad de las Hidrolasas Acidas y para que se produzca la rápida desmineralización (56).

#### 6.5 ACCION DE LAS DISTINTAS HORMONAS SOBRE EL TEJIDO OSEO:

En el adulto, la mayor actividad metabólica del esqueleto es la remodelación, donde la resorción y la formación se acoplan con objeto de mantener un recambio óseo relativamente elevado sin que en condiciones normales exista ganancia o pérdida neta de materia. Sobre este proceso actúan varias hormonas y factores, ya sea mediante efectos directos sobre las células óseas o indirectos mediados por otras hormonas o por sistemas

de transporte de minerales, como el intestino o riñón. Todo es tó se complica aún más por el hecho de que el metabolismo óseo está bajo el control de ciertos factores locales que podrían actuar como mediadores de la acción de ciertas hormonas, funcio nando como reguladores del metabolismo cálcico.

En la tabla 1 se detallan el efecto de los distintos agentes, que hasta el presente, se conoce que actúan sobre el metabolismo óseo:

Agente A: Aumenta D: Disminuye	Efecto sobre la Resorción Ósea		Efecto sobre la Formación Ósea	
	Direc <u>to</u>	Indi <u>recto</u>	Direc <u>to</u>	Indi <u>recto</u>
<u>Hormonas del Metabolismo Cálcico</u>				
PTH	A	A	D	A
1 $\alpha$ , 25-DihidroxiD	A	D	D	?
CT	D	-	-	-
<u>Hormonas con acción sistémica</u>				
Glucocorticoides	D	A	D	D
Insulina	-	-	A	A
Tiroxina	A	-	?	A
Hormonas Sexuales	-	D	-	A
Hormona del Crecimiento	-	-	-	A
<u>Factores de Crecimiento</u>				
Somatomedinas	-	-	A	-
Factor Epidérmico de Crecimiento	A	-	D	?
Factor de Crecimiento Fibroblástico.	A	-	D	?
<u>Factores Locales</u>				
Prostaglandina E <sub>2</sub>	A	-	*AD	-
Factor Activante de Osteoclastos.	A	-	D	-

\*Depende de la concentración.

Tabla 1

Raisz, L.G. Bone Metabolism and its Hormonal Regulation. Triangle 22 (2,3), pag. 82.

Podemos entonces decir que, los efectos hormonales sobre el tejido óseo podrían clasificarse en: a) Aquellos que influyen sobre la formación o resorción ósea, b) Aquellos que regulan primariamente el metabolismo del Ca, c) Aquellos que actúan sobre el esqueleto, como parte general de su acción sistémica.

#### 6.5.1 HORMONAS QUE ACTUAN SOBRE EL METABOLISMO CALCICO:

##### 1.- PARATOHORMONA:

En condiciones normales, el esqueleto está sometido a los efectos de la PTH, de la cual existe una secreción basal y, cuyos niveles sanguíneos, se hallan en constante cambio en respuesta a las necesidades de Ca y Fósforo del organismo. La acción de la PTH sobre el esqueleto es, en primera instancia, confusa y bifásica, ya que parece afectar directa e indirectamente, tanto el proceso de formación como el de destrucción ósea. En ciertos casos puede incrementar el proceso anabólico, contribuyendo a la formación y mineralización, mientras que en otras circunstancias puede deprimirlo, y, en consecuencia, aumentar el proceso catabólico de destrucción ósea.

En el hueso cortical, la maquinaria celular de destrucción y formación es anatómicamente inseparable; los procesos anabólicos y catabólicos están normalmente acoplados y pueden separarse sólo cuando la resorción está muy favorecida, ya sea en condiciones experimentales no fisiológicas, o en caso de enfermedades metabólicas óseas.

De los efectos de la PTH sobre el tejido óseo, el catabólico es sin duda el más conocido y estudios tanto en animales de experimentación como en humanos, demostraron que se produce en respuesta únicamente a niveles elevados de la misma. En cuanto a su acción anabólica sobre el hueso, predomina durante el crecimiento y constituye la respuesta princi

para niveles bajos, y está, a su vez, mediada por otros factores humorales. En el adulto, la acción anabólica constituye un efecto patológico en el que existe un aumento de la actividad osteoblástica y que de continuar lleva al estado denominado Osteopetrosis.

La PTH aumenta el número y la actividad de los Osteoclastos, con hipertrofia del retículo rugoso y del borde rugoso, a la vez que promueve la acumulación de depósitos de Ca como densos gránulos dentro de las mitocondrias. Por otro lado, también aumenta la actividad y proporción de los Osteocitos Osteolíticos, a la vez que inhibe la acción de los Osteoblastos (59).

El Colágeno óseo contiene dos cadenas Alfa I y una Alfa II, mientras que el cartílago de la matriz sólo contiene moléculas de Colágeno Alfa I. La acción de la PTH es relativamente específica para las proteínas colágenas de tipo I, pero no altera las de tipo II y además, tiene muy poco efecto sobre las proteínas no colágenas. Dosis farmacológicas de PTH producen, al ser inyectadas, modificaciones en las concentraciones de Hidroxiprolina e Hidroxilisina, con aumento en sus niveles plasmáticos y en la eliminación urinaria.

En cuanto a su mecanismo de acción, estudios con radioisótopos mostraron claramente que, dentro de las primeras horas de inyección de PTH, todo el Ca que penetra al fluido extracelular y al plasma lo hace sin el acompañamiento de Fosfato. La entrada de Ca producida en respuesta a la acción osteolítica de la PTH, actuaría de por sí, como segundo mensajero; por otra parte, simultáneamente se produce un aumento en la actividad de la Adenilato Ciclasa. Esta enzima aumenta la concentración intracelular de  $AMP_c$ , el cual al actuar como segundo mensajero, activa a enzimas fosforilantes desencadenándose un proceso de actividad enzimática en cascada; además, ciertas fosfoquinasas requieren la presencia de Ca para su activación, con lo cual, si bien el  $Ca^{++}$  y el  $AMP_c$  tienen roles independientes, se supone que existe una interacción entre estos dos segundos mensajeros, en respuesta a la acción de la PTH

sobre el tejido óseo (60).

## 2.- CALCITONINA:

La CT tiene una acción directa de inhibición sobre la resorción osteoclástica, disminuyendo el transporte de Ca desde el hueso hacia los fluidos (61). Actualmente se postula que, la secreción de CT se produce en respuesta a la entrada de alimentos en el tubo digestivo y que por su acción hipocalcemiante promueve una rápida acumulación de Ca en forma "disponible" en los fluidos óseos, perfectamente distinguible del depósito estable de Fosfato de Ca presente sobre la superficie del hueso. Este Ca estaría en una forma lábil y se ha postulado que no podría transformarse en cristales de Hidroxiapatita, debido a la presencia de un inhibidor fisiológico de la mineralización. Al cesar la absorción de Ca, disminuyen los niveles de CT circulante y ese Ca "disponible" retornaría entonces al fluido extracelular. Este mecanismo ayudaría a disminuir la pérdida de Ca postprandial en orina y suministraría suficiente Ca como para mantener su nivel plasmático en períodos de ayuno. El resultado neto sería el de permitir una disminución en la secreción de PTH durante dicho período para que se vea minimizada su acción resorptiva (35).

La CT, al igual que la PTH, aumenta la concentración de  $AMP_c$  en el hueso, lo que hace suponer que el  $AMP_c$  participa de la modulación y de la remodelación del tejido óseo, actuando en forma diferente sobre las distintas poblaciones celulares. Esto explicaría las distintas propuestas de ciertos autores, para interpretar la acción del  $AMP_c$  a nivel de las células óseas (59).

## 3.- VITAMINA D:

La inclusión de la Vitamina D en este ítem responde a la tendencia actual de considerarla como una hormona de naturaleza esteroidea. A través de su metabolito activo, el  $1\alpha,25$ Dihidroxi $D_3$  presenta una acción bifásica sobre el tejido óseo.

La Vitamina D actúa sobre el desarrollo y crecimiento del hueso; este efecto trófico podría explicarse no como una acción directa, sino por el rol que desempeña en la absorción y el aporte adecuado de Ca y Fosfato, -esenciales para el normal crecimiento óseo-, y se han presentado pruebas de efectos tróficos directos. Por otra parte, la Vitamina D presenta efectos catabólicos, los que serían importantes a concentraciones elevadas de  $1, \alpha 25$ DihidroxiD<sub>3</sub>. Niveles elevados del metabolito activo se producen cuando la dieta no aporta cantidades adecuadas de Ca y Fosfato, los cuales deben mobilizarse entonces del hueso, para mantener sus concentraciones séricas dentro del rango normal. En intestino, la  $1, \alpha 25$ DihidroxiD<sub>3</sub> no requiere la presencia de PTH para ejercer su acción; en cambio, en el tejido óseo, la movilización catabólica del Ca y Fosfato requiere necesariamente de PTH (61).

"In vivo", la deficiencia de Vitamina D, produce un aumento en la resorción ósea debido a un hiperparatiroidismo secundario, caracterizado por un hueso con bordes desmineralizados, común en el raquitismo.

#### 6.5.2. HORMONAS CON ACCION SISTEMICA:

##### 1.- GLUCOCORTICOIDES:

Tienen una poderosa acción directa e indirecta sobre el hueso. a nivel celular, ya que inhiben la formación y estimulan la resorción ósea, a tal punto, que, los pacientes que reciben grandes dosis de Glucocorticoides por largos períodos de tiempo, presentan frecuentemente Osteopenia (61, 62).

##### 2.- INSULINA:

Tiene una acción trófica sobre el hueso, como parte de su acción general sobre el crecimiento. En la Diabetes, su deficiencia se asocia a una disminución de la masa ósea, posiblemente por cambios en el estado nutricional, en la producción de Somatomedina o en el metabolismo de la Vitamina D (61,62).

### 3.- HORMONAS TIROIDEAS:

La deficiencia de Hormonas tiroideas disminuye el crecimiento y el recambio óseo, mientras que el exceso los acelera; los mecanismos por los cuales se producen estos efectos no han sido dilucidados (61,63).

### 4.- HORMONAS SEXUALES:

Las Hormonas Sexuales posiblemente ejerzan sus efectos indirectamente, a través de alteraciones en la secreción de otras hormonas o factores locales. Cambios en la secreción de Andrógenos, Estrógenos y probablemente Progestágenos se asocian con marcados cambios en el metabolismo esquelético. En la prepubertad, un exceso de Andrógenos producen aceleración en el crecimiento lineal y en la maduración ósea; en la pubertad, los estrógenos parecen oponerse a la acción de la PTH "in vivo" (61,64).

### 5.- HORMONA DEL CRECIMIENTO:

Esta hormona puede aumentar la absorción intestinal de Ca y estimular el crecimiento del esqueleto, probablemente a través de su efecto sobre otras hormonas, particularmente las Somatomedinas (65).

#### 6.5.3 FACTORES DE CRECIMIENTO:

##### 1.- SOMATOMEDINAS:

Estimulan la síntesis del Colágeno y de proteínas no colágenas, tales como la Osteocalcina y la Osteonectina, así como también, la síntesis de DNA. Si bien las Somatomedinas, no tienen efecto directo sobre la resorción, en pacientes con exceso de las mismas, se observa un aumento en el recambio óseo (61).

##### 2.- OTROS FACTORES DE CRECIMIENTO:

Existen numerosos factores sistémicos que ejercen su acción sobre el tejido óseo. El Factor de Crecimiento Epidérmico estimula la resorción y disminuye la síntesis de Colágeno; el Factor de Crecimiento Fibroblástico, junto al anterior, incrementa la resorción por estimulación de la

síntesis de Prostaglandinas.

#### 6.5.4 FACTORES LOCALES:

##### 1.-PROSTAGLANDINAS:

Especialmente la Prostaglandina E incrementa la producción de AMP<sub>c</sub> y estimula la resorción ósea. Debido a que la Prostaglandina E es uno de los pocos agentes que estimulan tanto la resorción como la formación, es una candidata potencial al rol de "Factor de Acople o Coupling Factor" del tejido óseo propuesto por Raisz (66).

##### 2.-FACTOR ACTIVANTE DE OSTEOCLASTOS:

Los Leucocitos T y B humanos sometidos a antígenos o mitógenos, producen un potente estimulador de la resorción ósea. Si bien esta Linfoquina difiere químicamente de la PTH, actúa en forma similar a ella. Su rol fisiológico no se conoce exactamente (61,67).

#### 6.5.5 ACCION DE VITAMINAS SOBRE EL TEJIDO OSEO:

Las Vitaminas A y C son importantes para el desarrollo normal del esqueleto; la primera actúa en la depolimerización e hidrólisis del Condroitín Sulfato y la segunda participa en la síntesis de Colágeno, ya que es necesaria para la hidroxilación de la Prolina y la Lisina (68).

#### 7.- REQUERIMIENTOS

La dieta debe proveer la cantidad adecuada de nutrientes esenciales que garanticen el mantenimiento del estado de salud. Esta cifra recibe el nombre de Requerimiento y varía con la edad, estado fisiológico y nutricional del individuo. Su determinación se realiza en base a criterios que pueden agruparse en tres categorías:

- \* METODO FACTORIAL: Consiste en determinar las pérdidas por las distintas vías, cuando se administra una dieta carente del nutriente en estudio. El valor obtenido se

debe corregir, teniendo en cuenta su absorción intestinal así como las alteraciones que sufre su velocidad de recambio como consecuencia de su ingestión.

\* METODO DE BALANCE: Consiste en determinar la cantidad del nutriente que es necesario ingerir para compensar la totalidad de las pérdidas y mantener al individuo en estado de equilibrio. En el caso de individuos en crecimiento, debe existir un balance positivo para poder mantener un crecimiento adecuado.

\* METODO EPIDEMIOLOGICO: Consiste en determinar la ingesta de alimentos mediante una encuesta, sobre un grupo poblacional en el cual no se evidencie sintomatología clínica de deficiencia del nutriente en estudio. Este método sólo es aplicable al humano.

Para establecer RECOMENDACIONES O INGESTAS RECOMENDADAS válidas, a nivel poblacional, los valores de requerimientos calculados por cualquier método, se corrigen teniendo en cuenta la variabilidad individual de los grupos estudiados. Considerando que la distribución de frecuencias de una población normal adquiere la forma de una curva Gaussiana, la cifra de requerimiento se incrementa en dos desviaciones estandares; de este modo, la ingesta recomendada cubre las necesidades del 97.5% de la población estudiada. Otras correcciones que es preciso realizar, involucran factores derivados de la biodisponibilidad del nutriente en la dieta y de la eficiencia de los procesos fisiológicos del individuo.

Existen diversos organismos internacionales que han elaborado tablas con Ingestas Recomendadas de nutrientes; las más divulgadas y utilizadas son las del NRC (National Research Council-USA) (69) y las de FAO/OMS (Food Agricultural Organization/Organización Mundial de la Salud) (70). En general existen discrepancias entre ambos organismos, las que derivan del método empleado para determinarlas. Para la mayor parte de los nutrientes dichas diferencias no son muy profundas, pero en el caso particular del Ca la discrepancia alcanza hasta un 100% de sus valores.

Como el 99% del Ca se encuentra en hueso, es lógico pensar que bajas ingestas podrían perjudicar la calidad y la cantidad del hueso, especialmente, en los estados que requieren mayor cantidad de Ca como durante el crecimiento, en el embarazo y la lactancia y en los ancianos

#### 7.1 ADULTO:

Para el adulto, que representa el estado de equilibrio cálcico, FAO/OMS, basando sus recomendaciones en el Método Epidemiológico, aconseja 400 mg/día. Sin embargo, existen individuos, y aún poblaciones, que consumiendo ingestas de Ca inferiores a las aconsejadas, aparentemente no presentan estados carenciales debido a la existencia de una adaptación metabólica a la baja ingesta. Este tipo de adaptación consiste en una disminución en la eliminación urinaria, una mayor absorción intestinal y una menor velocidad de recambio; sin embargo, si la baja ingesta persiste, puede haber una paulatina desmineralización del tejido esquelético; estas alteraciones no se observarán clínicamente hasta grados muy avanzados de desmineralización y sólo se evidenciarán radiológicamente cuando la pérdida del mineral óseo sea de una magnitud considerable -entre un 30 y un 60%-(70,71). Si las bajas ingestas se perpetúan a través de las generaciones, la resultante puede ser individuos de baja estatura.

NRC, basa sus recomendaciones en la aplicación del Método Factorial, teniendo en cuenta los siguientes valores para las pérdidas inevitables:

* Eliminación Urinaria	175 mg/día
* Eliminación Fecal	125 mg/día
* Eliminación por piel, sudor, des- camación, etc.	20 mg/día
Total	320 mg/día

considerando una absorción promedio del 40%, se llega a la cifra recomendada de 800 mg/día para el adulto (69). Esta cifra es cercana a la obtenida por Mitchell y Curzon (72) aplicando el Método de Balance. Estos autores establecieron la existen-

cia de una correlación entre la eliminación (Y) y la ingesta (X) de Ca. La ecuación de regresión obtenida fue la siguiente:

$$Y = 0.68 X + 3.09 \quad (\text{mg/kg/día})$$

donde 0.68 representa el Ca eliminado por gramo de Ca ingerido, o sea, una utilización aparente del 32%. El término independiente, 3.09, representa el Ca eliminado cuando la ingesta es cero, equivalente a la eliminación endógena; este valor corresponde por lo tanto a la cantidad de Ca que el organismo debe reponer para mantener el estado de equilibrio cálcico. De este modo se obtiene una ingesta recomendada de 10mg/kg/d.

La aplicación reciente del Método Factorial, ha llevado a Whedon a aconsejar una cifra de 1086 mg/día, cifra aún superior a la aconsejada por NRC (73).

La aplicación en los últimos años de Métodos de Densitometría ósea e Indicadores Bioquímicos (74,75) confirman como más adecuada la cifra recomendada por el NRC.

## 7.2 CRECIMIENTO:

A diferencia del adulto, en el cual el Ca cumple sólo funciones de reemplazo, durante la infancia la formación de nuevo tejido óseo y la maduración del ya existente exige el aporte de grandes cantidades de Ca. Entre el nacimiento y la edad adulta, el organismo debe incorporar más de 1000 g de Ca; si se tiene en cuenta un período de crecimiento de aproximadamente 20 años, se necesitaría una retención promedio neta de 165 mg/día. Como la velocidad de crecimiento no es uniforme las necesidades y, por consiguiente las ingestas recomendadas, varían con la edad (Tabla 2).

En el Lactante, las ingestas recomendadas se han basado en cálculos realizados sobre la base del contenido de Ca de la leche materna y de la cantidad de promedio de leche ingerida diariamente. La absorción de Ca de la leche materna es de aproximadamente 60 a un 70% (76); esta cifra elevada se debe a la existencia en ella, de componentes que facilitan la

absorción y entre las que se encuentran: Lactosa, relación Ca/Fósforo, composición de sus proteínas, Acidos Grasos de cadena corta, Acido Cítrico y la ausencia de otros factores negativos. Cuando el lactante es alimentado con sustitutos de la leche materna será preciso tener en cuenta la biodisponibilidad del Ca de la fórmula a administrar, aspecto que no está contemplado en las tablas de recomendaciones.

REQUERIMIENTOS DE CALCIO PARA NIÑOS Y ADOLESCENTES

(mg/día)

Edad (años)	FAO/OMS(1962)	Edad (años)	NRC(1974)
<b>Niños</b>			
0-1	500-600	0-0.5	360
1-3	400-500	0.5-1.0	540
4-6	400-500	1-3	800
7-9	400-500	4-6	800
		7-10	800
<b>Adolescentes</b>			
<b>(varones)</b>			
10-12	600-700	11-14	1200
13-15	600-700	15-18	1200
16-19	500-600	19-22	800
<b>Adolescentes</b>			
<b>(hembras)</b>			
10-12	600-700	11-14	1200
13-15	600-700	15-18	1200
16-19	500-600	19-22	800

Tabla 2

### 7.3 EMBARAZO Y LACTANCIA:

Las ingestas de Ca durante el embarazo deben cubrir las necesidades de la madre y las del feto en desarrollo; Mitchell y Curzon estimaron un requerimiento de 1.56 g/día en el último mes lunar y un promedio de 1.2g/día durante los últimos 5 meses de embarazo (42).

Durante la lactancia se estiman los requerimientos de Ca para una mujer normal de 56 kg. de peso entre 1.16 y 1.75 g/día; dichos valores se obtienen de considerar de que la producción de leche es de unos 500 ml/día durante el primer mes posterior al parto y llega a un pico de 1000 ml/día, en el cual la concentración de Ca es de 36 mg/ml(42).

### 7.4 VEJEZ:

Generalmente las recomendaciones para el anciano no se las separa de la de los adultos. Sin embargo, actualmente, se discute si este grupo etario necesitaría mayor cantidad de Ca, debido a la normal pérdida de material óseo asociada a la edad y que lleva aparejada una elevada incidencia en la prevalencia de Osteoporosis senil (42).

### METABOLISMO DEL FOSFORO:

El Fósforo es un nutriente esencial requerido para múltiples funciones bioquímicas y fisiológicas. Se lo encuentra como Fosfato en forma abundante en los materiales biológicos, por lo cual, su deficiencia nutricional no es posible cuando se ingieren alimentos en cantidad suficiente como para satisfacer los requerimientos calóricos y proteicos. Experimentalmente la deficiencia de Fósforo puede producirse alimentando a los animales con dietas bajas en P y con gran exceso de  $Ca^{++}$ ,  $Sr^{++}$ ,  $Ba^{++}$  y otros cationes que lo precipitan en el tracto intestinal.

Todas las células contienen componentes de P, pero la mayor cantidad está localizada en los tejidos duros. En un adulto normal, existe aproximadamente 1kg. de P, encontrándose-

se el 85% en el esqueleto y dientes, y el 15% restante en los tejidos blandos. Como componente de los compuestos orgánicos, el Fósforo tiene varias funciones, entre las que se encuentran: la formación de enlaces ricos en energía (ATP, ADP, etc.), como componente de las membranas celulares, formando parte de los Fosfolípidos; en la síntesis de material genético, como DNA y RNA. El Fósforo contribuye a la capacidad buffer de los fluidos corporales, así como a la formación de la hidroxipatita de los tejidos duros.

La biodisponibilidad del Fósforo en la dieta varía de acuerdo al compuesto y a la especie animal en cuestión. Las dietas predominantemente vegetales contienen una alta proporción de Fósforo como componente del Fitato. En esta forma está menos disponible que en los Fosfatos inorgánicos para ciertas especies de animales tales como el hombre, rata, pollo, perros y chanchos. En algunos animales existe una Fitasa -dependiente de Vitamina D- presente en el intestino y secreciones intestinales que degrada al Fitato haciéndolo más biodisponible. La microflora de los rumiantes produce grandes cantidades de Fitasa.

La absorción del Fósforo se produce en el intestino por pasaje del Fosfato a través de la membrana gastrointestinal. Sin embargo, se demostró un transporte activo de Fósforo en el intestino de rata, estimulado por Vitamina D y dependiente de  $\text{Na}^+$ . Existiría un cotransporte entre el  $\text{Na}^+$  y el Fosfato, por interacción con un transportador común de la membrana.

El transporte de Fosfato no depende de la presencia de Ca, si bien se ha encontrado que, para un dado segmento intestinal, existe una relación constante entre el transporte de Ca y P, a pesar de cambios en el estado fisiológico del segmento. Esto se explicaría sobre la base de un sistema de un transporte acoplado, estimulado por la  $1,25\text{DihidroxiD}_3$ , tanto para el Ca como para el Fosfato o por la inducción coordinada de distintos sistemas de transportes de Ca y Fosfato. La eficien-

cia en la absorción intestinal de Fósforo decrece desde el duodeno al ileón y el segmento con mayor incremento en la absorción de Fósforo debido a la acción de la Vitamina D es el yeyuno (77). El Fósforo absorbido no se incorporaría al "pozo" existente en la célula intestinal, sino a una vesícula que atraviesa la célula por medio de canales o como un derivado fosforilado. Resumiendo, a diferencia del Ca cuya entrada a mucosa es pasiva, pero, su paso a través de la membrana plasmática es activa, el Fosfato entra activamente y su liberación al espacio extracelular es de naturaleza difusional, sin descartar un mecanismo de transporte especial, en este último caso.

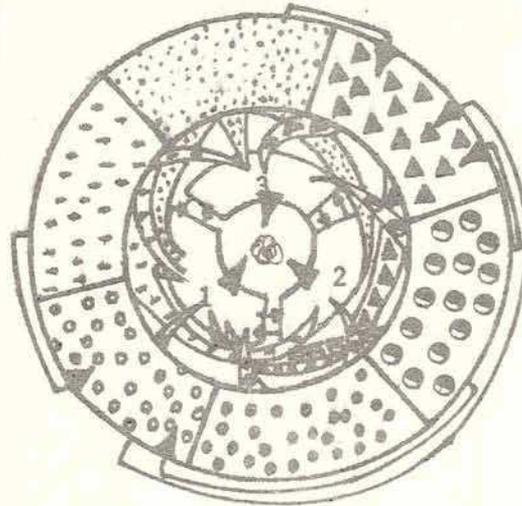
El Fósforo inorgánico del plasma se encuentra principalmente como ortofosfato; el  $\text{HPO}_4^{=}$  y el  $\text{H}_2\text{PO}_4^{-}$  están en una proporción aproximada de 4:1. La concentración de Fósforo inorgánico normal del plasma es de 3.5 a 4.0 mg de P/100 ml y se encuentra, al igual que el Ca, regulado homeostáticamente.

El Fósforo se encuentra "almacenado" en hueso el que actúa como regulador de su nivel plasmático. La principal vía de excreción es la orina, en la que se encuentra como ortofosfato. En heces existe baja cantidad de Fósforo, debido a que se absorbe más de un 70% de lo ingerido (78).

#### ALTERACIONES DEL METABOLISMO FOSFO-CALCICO:

La densidad ósea aumenta progresivamente desde el nacimiento hasta alcanzar un máximo en la edad adulta, nivel en el que permanece por largo tiempo, para luego disminuir con la edad. Esto se debe a la pérdida del mineral óseo, que únicamente se produce en la superficie del endostio, particularmente en las partes que contactan con la médula ósea; este hecho se debe a un desequilibrio entre la resorción y la formación, dentro de los ciclos individuales de la remodelación ósea. Es un proceso multifásico producido por una diversidad de causas en dógenas y exógenas (Figura 7).

Uno de los factores más importantes es la edad, que



- 1 Actividad Física
- 2 Efecto Hormonal
- 3 Acciones Metabólicas
- ... Edad
- ▲ Dieta
- Area Geográfica
- Sexo
- ◉ Origen Etnico-Socioeconómico.
- ◉ Raza-Caracteres genéticos.

Figura 7

Albanese, A. Bone Loss: Causes, Detection and Therapy. Current Topics in Nutrition and Disease. A.Liss, INC., N.Y, 1977; página 81.

lleva a un desplazamiento hacia la resorción. La pérdida ósea es más temprana y más rápida en las mujeres que en los hombres. El hecho de que la formación no se incremente suficientemente, como para reemplazar el hueso resorbido, se debe en parte a la reducción en la superficie disponible para la acción de los osteoblastos. Existe con la edad un reemplazo progresivo de la médula hematopoyética por grasas, y en consecuencia, una disminución en la disponibilidad de precursores osteoblásticos. Todo esto lleva a una disminución en el número o tamaño de los osteoblastos competentes.

Si la dieta provee cantidades superiores a las necesarias para el crecimiento y la resorción del tejido, los huesos pueden acumular un suplemento de Ca y P de reserva. Esta se encuentra como cristales de Fosfato de Ca en forma de agujas dentro de las terminaciones de los huesos largos (Trabécula). En condiciones de "stress" esta reserva puede utilizarse para suplir las necesidades crecientes de Ca, en caso de que la dieta no compense las pérdidas. Si no existe tal reserva,

el Ca debe tomarse de la estructura ósea, pero esa pérdida, no se realiza uniformemente en todos los huesos, sino principalmente en los huesos espinales y en los de la pelvis; posteriormente se afectan los huesos largos (79).

Por otra parte, la reducción en la cantidad de mineral en el hueso es la razón más importante para que éstos se vuelvan frágiles, den lugar a el síndrome clínico de Osteoporosis relacionada con la edad, y aumente así la incidencia de fracturas.

#### 1 OSTEOPOROSIS:

Es una condición patológica donde la formación del hueso no se realiza normalmente. Además de las deficiencias de la dieta, la Osteoporosis puede ser causada por desórdenes en el metabolismo, tanto mineral como proteico. En su tipo primario es una enfermedad relacionada a un balance negativo de Ca, que aunque pequeño en cantidad, es continuo por largos períodos de tiempo. Este balance de Ca negativo puede deberse a distintos factores, entre ellos: inadecuada ingesta de Ca, aumento en la excreción urinaria y malabsorción.

Es sabido que una dieta deficiente en Ca produce la pérdida mineral del esqueleto. Si bien se ha demostrado en adultos normales que, una alta proporción de sujetos puede adaptarse a bajas ingestas de Ca, cuando por cualquier causa esta adaptación falla, se producen balances negativos, aumentando así los riesgos de Osteoporosis (80). No sólo dietas bajas en Ca producen la pérdida ósea, sino también aquellas dietas excesivas en Fósforo o con una relación Ca/Fósforo baja, debido a que un exceso de Fósforo en las mismas da lugar a un hiperparatiroidismo secundario y consecuentemente a un aumento en la resorción ósea.

Por otra parte existe una disminución en la absorción intestinal de Ca con la edad, la cual se correlaciona con una disminución en los niveles plasmáticos de  $1\alpha,25$ DihidroxiD<sub>3</sub>. Este hecho sugiere una asociación entre la edad y la concentración plasmática del metabolito activo de la Vitamina D

y la presencia de Osteoporosis. Debido a que este metabolito se hidroxila en riñón, se especula que la pérdida normal ósea se asocia, en mujeres mayores de 40 años y en hombres mayores de 50 años, con una disminución en el número de nefrones funcionantes. En el caso de mujeres osteoporóticas postmenopáusicas, el principal defecto no se encuentra en el metabolismo de la Vitamina D, sino, en la sensibilidad del hueso a los agentes que movilizan al Ca óseo.

El término de "Osteoporosis secundaria" se aplica a aquellos casos en los que existe una patología determinada y conocida para la pérdida ósea. Las causas más probables pueden ser: inadecuada cantidad de proteínas, minerales y vitaminas en la dieta por largos períodos de tiempo, un desequilibrio hormonal o extrema inactividad física por distintas causas (81). En niños puede también deberse a una deficiencia de Acido Ascórbico.

Actualmente se postula que la Calcitonina jugaría un papel sumamente importante en la etiología de la Osteoporosis, ya que existe una relación entre su baja concentración plasmática y el aumento en la incidencia de la misma. Así, la concentración plasmática de CT es mayor en negros que en blancos, disminuye con la edad, siendo mayor la caída en la mujer, aumenta en el embarazo y la lactancia y disminuye por la administración de anticonceptivos orales que contienen Estrógenos. La prevalencia de Osteoporosis responde a un patrón inverso a los enumerados anteriormente (82).

## 2 RAQUITISMO Y OSTEOMALACIA:

Se trata de una misma entidad clínica que en los niños se llama Raquitismo y en los adultos se conoce como Osteomalacia. Se produce por una falta de Ca o Fósforo en los líquidos del organismo y se caracteriza por la deficiencia de Ca en el esqueleto.

El Raquitismo es una enfermedad que se debe a una falta de Vitamina D, más que a la deficiencia de Ca o Fós-

foro. No se observa en niños que reciben suficiente luz solar.

La Osteomalacia prevalece en las mujeres orientales o en aquellas de otras partes del mundo que toman poco sol, consumen dietas extremadamente bajas en Ca y tienen los requerimientos de Ca aumentados, así como los de Vitamina D, debido a embarazos frecuentes.

En estas enfermedades no se observa una gran disminución en los niveles plasmáticos de Ca, ya que la PTH impide su caída sanguínea, por aumento en la reabsorción ósea. Este proceso debilita al hueso por depósito de una gran cantidad de matriz orgánica, con lo cual se inhibe la calcificación del cartílago y de nuevos osteones, y en consecuencia el hueso se vuelve blando.

Raquitismo u Osteomalacia debidos a causas secundarias, tales como defectos renales, hipofosfatemia familiar, fallas congénitas en el metabolismo de la Vitamina D, malabsorción intestinal de grasas, fallas renales crónicas son morfológica y clínicamente similar a las de origen nutricional (83).

### 3 OSTEOPETROSIS:

Es una enfermedad debida a una reducción en la remodelación del esqueleto, cuya etiología se debe a un defecto autosomal recesivo en la funcionalidad de los Osteoclastos.

Esta afección se caracteriza por un incremento en la masa esquelética debido a una resorción reducida o ausente, así como a una acelerada velocidad de formación, o a una combinación de ambos procesos. Se clasifica en Osteopetrosis juvenil maligna recesiva y en adulta benigna dominante. Ambas monifiestan ser similares radiológicamente, los huesos se asemejan al mármol y no puede distinguirse una de la otra. La juvenil se manifiesta generalmente al nacimiento y la muerte del individuo ocurre antes de la pubertad; en cambio, la adulta es asintomática y raramente se manifiesta antes de la pubertad(84).

OBJETIVOS

En base a todo lo expuesto en la introducción surge la necesidad de aclarar ciertos aspectos del metabolismo Calcico. Para ello se diseñó el trabajo, objeto de la presente Tesis, que tiene los siguientes objetivos:

OBJETIVOS GENERALES

- \* Establecer la interrelación entre el contenido proteico de la dieta, su relación Ca/Proteína y la Velocidad de Crecimiento, durante el desarrollo normal y durante la recuperación nutricional, en animales de experimentación.
- \* Establecer la correlación entre las necesidades de Ca, la Velocidad de Crecimiento y el estado nutricional previo, en niños desnutridos.
- \* Interpretar algunos aspectos relacionados con los mecanismos de regulación del metabolismo Fosfocálcico.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- \* Estudiar las alteraciones óseas producidas por la desnutrición.
- \* Estudiar el efecto de la realimentación sobre el tejido óseo, en función de la edad y de la relación Ca/Proteína de la dieta.
- \* Estudiar el efecto de la relación Ca/Proteína de la dieta y el estado nutricional sobre:
  - absorción y retención de Ca.
  - niveles de PTH sérica.
  - tamaño y composición de los huesos.

## M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

### EXPERIMENTACION CON ANIMALES DE LABORATORIO:

#### 1.- GENERALIDADES:

Se utilizaron ratas blancas de la cepa Wistar, provenientes del bioterio central de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, trasladadas en el momento del destete al bioterio del Departamento de Bromatología Y Nutrición Experimental. Se seleccionaron los animales que, al destete, presentaban un peso entre 33 y 34 g., agrupandóselos al azar en lotes de 6 animales cada uno, con igual cantidad de machos y hembras. El bioterio contaba con temperatura controlada de  $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , con 70 % de humedad relativa y ciclos de luz-oscuridad de 12hs.

Los animales se mantuvieron en jaulas galvanizadas con piso de malla, administrándoles agua destilada y una de las dietas experimentales asignadas, "ad libitum". Durante los últimos 5 días de cada período experimental, los animales fueron colocados individualmente en jaulas metabólicas de acrílico, diseñadas para la separación de la orina de las heces. Durante dicho período fueron sometidos a estudios de balance; al finalizar el mismo y luego de un ayuno de 5 hs. , los animales fueron sacrificados por punción cardíaca, previa anestesia con éter etílico.

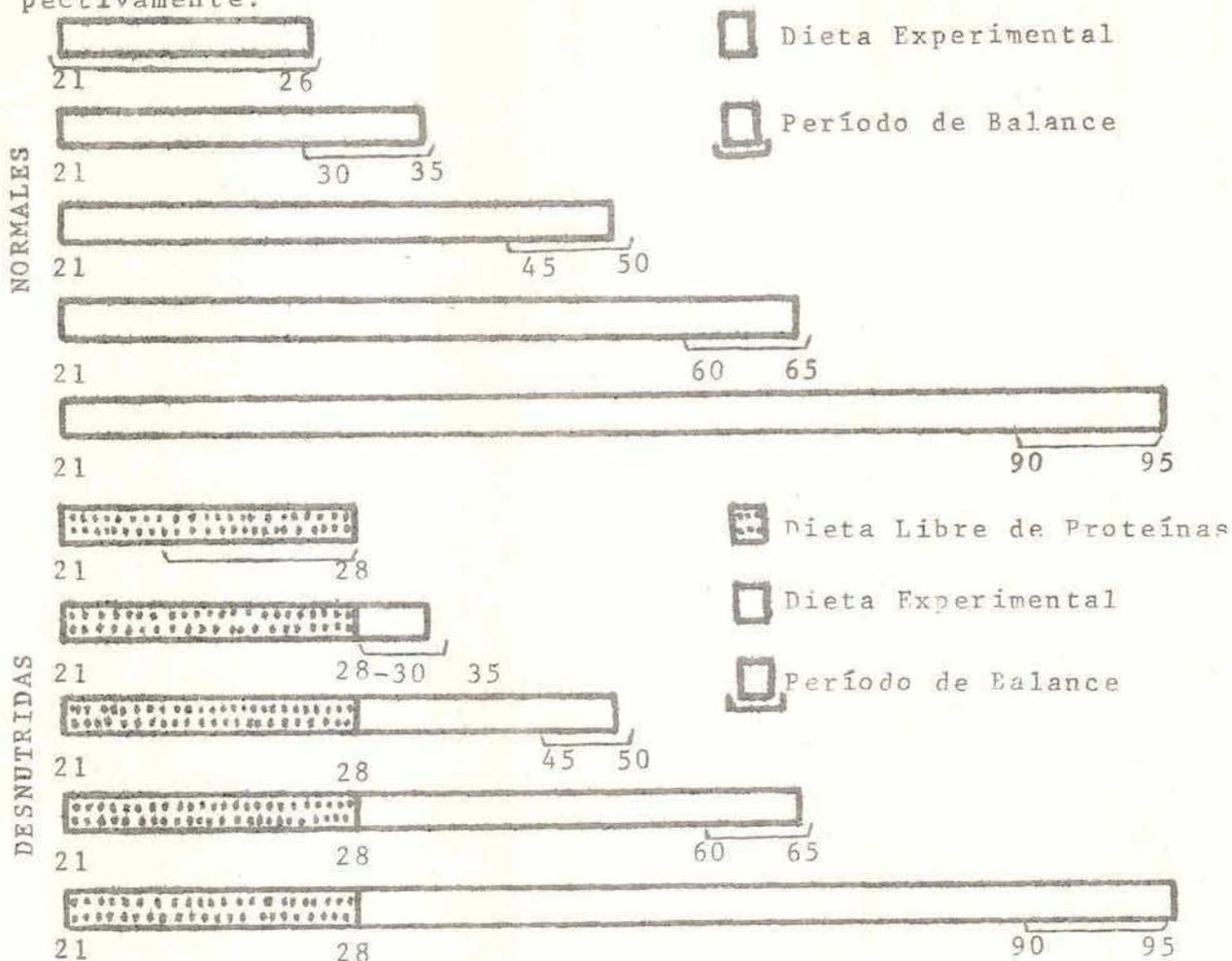
#### 2.- CONSTITUCION DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES:

Los animales fueron divididos al azar en dos grupos experimentales, los cuales se estudiaron en forma pareada durante 3 meses: Normales (N) y Desnutridos (D), con igual número de animales en cada uno de ellos (Figura 8).

##### I) ANIMALES NORMALES:

Se los subdividió en tres lotes de 30 animales cada uno, alimentandóselos desde el destete y hasta la finalización de la experiencia con una única dieta, conteniendo 10, 20 o 30%

de proteínas, según el lote en estudio: N10%, N20% y N30%, respectivamente.



Constitución de los Grupos Experimentales

Figura 8

II) ANIMALES DESNUTRIDOS:

Los animales fueron alimentados desde el destete y durante 7 días, con una dieta libre de proteínas. Luego de dicho período fueron realimentados hasta la finalización de la experiencia, al igual que los animales normales, con una única dieta experimental: D10%, D20% y D30%, respectivamente.

3.- PARTE EXPERIMENTAL:

Consistió en estudios de Balance, los que se llevaron a cabo durante los últimos 5 días de cada período experimental: a partir de la edad de 21, 30, 45, 60 y 90 días, para

los animales Normales; para los animales Desnutridos a partir de los 30, 45, 60 y 90 días. Los datos correspondientes a cada edad se obtuvieron de un sub-lote de 6 animales cada uno. Se realizó, además, un estudio de Balance para los animales desnutridos correspondiente a los 21 días sobre un sub-lote que consumió a partir del destete la dieta libre de proteínas.

#### 4.- DIETAS:

La composición de las dietas experimentales figura en la tabla 3 . Todas las dietas fueron isocalóricas y se diseñaron para aportar 0, 10, 20 ó 30% de proteínas, el resto estuvo constituido por 5% de mezcla de sales, 4.5% de lípidos, 0.5% de Vitaminas hidrosolubles, 0.25% de Vitaminas liposolubles, 0.75% de Colina y, como Hidrato de Carbono, Dextrina en cantidad suficiente para 100 g. La composición de la mezcla de sales y de Vitaminas se detalla en la tabla 4 (85).

En todos los casos se utilizó Caseína como fuente proteica. Los animales recibieron agua destilada a excepción de los 5 días de Balance en que se les administró agua desionizada. En ambos casos el consumo de agua fue "ad libitum", al igual que el de la dieta experimental asignada.

#### 5.- PRUEBAS DE BALANCE:

Se realizaron sobre muestras de 5 días a las edades indicadas en el ítem 3. Diariamente se midió el consumo de alimentos y se recogió la orina, sobre 3 gotas de ClH(c) como conservador. Se midió su volumen y guardó en frascos de vidrio en forma diaria, a -20°C hasta su análisis. La contaminación de la orina con dieta se evaluó cuantitativamente por el método del Polietilen Glicol; la ausencia de pérdidas en la recolección de orina se verificó mediante la determinación de la constancia en la eliminación de Creatinina.

Las heces fueron recolectadas durante los 5 días sobre Acetona y luego de ser lavadas varias veces con Acetona, se secaron en lámpara Infrarrojo durante 72 hs. Para homogeneizar-

T A B L A 3

COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES  
(g/100g).

<u>COMPONENTE</u>	<u>CANTIDAD</u>
PROTEINAS*	(Variable:0,10,20 ó 30%)
COLINA	0.15
ACEITE DE MAIZ	4.50
VIT.HIDROSOLUBLES	0.25
VIT.LIPOSOLUBLES	0.50
MINERALES	5.00
DEXTRINA csp.**	100.00

\* Caseína conteniendo 85.0 % de proteínas (N x 6.25).

\*\* Dextrina British gum 900 10/201/4 (Refinerías de Maíz S.A.  
I.C.-Argentina).

T A B L A 4

MEZCLA DE SALES				MEZCLA DE VITAMINAS HIDROSOLUBLES		MEZCLA DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES	
Componentes	%	Ele- men.	%Elem. Mezcla	Componentes	gramos	Componentes	Cantidad
CaCO <sub>3</sub>	29.29	Ca	11.88	Tiamina	0.5	Vitamina A	400 UI/100g
CaHPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.48	P	7.88	Riboflavina	0.5	Vitamina D	200 UI/100g
		Ca/P	1.50	Niacina	2.5	Vitamina E	10 mg/100g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	34.31	K	9.86	Pantotenato de Ca	2.0	Aceite de Maíz csp.	0.5 g.
NaCl	25.06	Na	9.86	Piridoxina.HCl	0.25		
		Cl	15.20	Acido Fólico	0.02		
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	9.98	Mg	0.98	Vit.K(Menadiona)	0.05		
Fe(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ).6H <sub>2</sub> O	0.623	Fe	0.098	Biotina	0.01		
CuSO <sub>4</sub> (anhidro)*	0.156	Cu	0.089	Vitamina B <sub>12</sub>	0.002		
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.121	Mn	0.039	Inositol	10.0		
ZnCl <sub>2</sub>	0.020	Zn	0.008	Acido Ascórbico#	5.0		
KI	0.0005	I	0.00038	Sacarosa	227.17		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.0025	Mo	0.00019				

\* ó CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O

#Es agregado para impedir  
la destrucción de la  
Tiamina

las se las molió en un mortero, luego fueron guardadas en desecador, en tubos de polietileno, hasta su análisis.

De la información obtenida, se calculó: Balance, Absorción y Porcentaje de Absorción de Ca, Fósforo y Nitrógeno, según las siguientes fórmulas:

$$\text{BALANCE} = \text{INGERIDO} - \text{ELIMINADO}$$

(correspondiendo lo eliminado a la sumas de las pérdidas urinaria y fecal).

$$\text{ABSORCION} = \text{INGERIDO} - \text{ELIMINACION FECAL}$$

$$\% \text{ ABSORCION} = \frac{\text{INGERIDO} - \text{ELIMINACION FECAL}}{\text{INGERIDO}}$$

Se hace la salvedad de que, en los estudios de Balance, no se computaron las pérdidas por tegumentos (descamaciones, pelos, etc.) o sudor, que, si bien no tienen importancia en el Balance de los animales durante el crecimiento activo, puede representar una proporción importante en el gasto de mantenimiento de los animales adultos.

También se deja constancia de que en este estudio, no se trabajó con dietas carentes de Ca y/o Fósforo, razón por la cual, no se determinaron los valores correspondientes a las excreciones metabólicas. Por consiguiente, los resultados de Balance representan las Retenciones "aparentes" y no las Retenciones "reales" que hubieran surgido de aplicar las siguientes fórmulas:

$$\text{BALANCE} = \text{INGERIDO} - (\text{ELIMINADO}) + (\text{ELIMINADO METABOLICO}).$$

$$\text{ABSORCION} = \text{INGERIDO} - (\text{ELIMINACION FECAL} + \text{ELIMINACION FECAL METABOLICA}).$$

Sin embargo, todas las etapas incluidas en este estudio, dieron como resultado que, tanto las ingestas como las retenciones fueron tan superiores a los valores de Calcio Fecal Metabólico mencionado en la literatura (86), que este puede considerarse despreciable y por ende, los Balances aparentes no diferirán significativamente de los reales.

6.- VELOCIDAD DE CRECIMIENTO:

Se expresó como el aumento de peso registrado durante los 5 días de la experiencia de balance, en función del peso promedio de dicho período experimental, por el número de días de balance, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$VGP = \frac{(\text{PESO INICIAL} - \text{PESO FINAL})}{1/2(\text{PESO INICIAL} + \text{PESO FINAL})} \times \frac{1}{5} \times 100 \text{ (g/100grata/d)}$$

7.- OTRAS PRUEBAS:

Al finalizar cada período experimental, y luego de sacrificar a los animales, se realizaron las siguientes determinaciones:

a.- SANGRE:

El plasma, obtenido por punción cardíaca sobre Heparina, fue separado por centrifugación manteniéndolo a -20°C hasta la determinación de PTH.

b.- MUSCULOS:

Los gastrocnemios de ambas patas traseras fueron pesados, inmediatamente a su extracción, y posteriormente se secaron durante 72 hs. a 100°C. Se pesaron nuevamente y se mantuvieron en desecador hasta su análisis. Se determinó, el contenido de Nitrógeno y agua.

c.- HUESOS:

Los fémures derechos, libres de tejido muscular, se secaron durante 72 hs. en estufa a 100°C. Se les extrajo el tejido graso sumergiéndoselos, durante 15 días, en una mezcla de Cloroformo:Metanol (3:1). Posteriormente se secaron en estufa durante 48 hs a 100°C. Se determinó sobre la muestra desengrasada y seca: peso, longitud, diámetro medio; posteriormente se calcinaron a 700°C hasta aspecto blanco cristalino. Se pesaron para obtener el valor de cenizas, luego de lo

cual, se disolvieron en  $\text{ClH}(\text{c})$  para determinar su contenido en Ca y Fósforo.

Con los resultados de las distintas determinaciones se calculó: Cenizas Totales, Porcentaje de Cenizas, Contenido de Materia Orgánica, Contenido de Ca y Fósforo, Relación entre Materia Mineral y Orgánica y Relación Ca/Fósforo.

#### 8.- METODOS ANALITICOS:

##### a.- DETERMINACION DE LOS PESOS:

Tanto el peso de los animales como el de las dietas, fémures y músculos se determinaron utilizando una Balanza Analítica Mettler, con una aproximación de 0.1g 0.01 g: y 0.01 mg. respectivamente.

##### b.- DETERMINACION DE LA LONGITUD Y DIAMETRO MEDIO DE LOS FEMURES DERECHOS:

La longitud se determinó con Calibre que presentaba una aproximación de 1:20. El diámetro medio se determinó con un Palmer que presentaba una aproximación de 1:100.

##### c.- DETERMINACION DE PROTEINAS:

En las muestras de dieta y heces de los distintos grupos experimentales se empleó el método de Kjeldahl usando el factor de 6.25 para la conversión de Nitrógeno en Proteínas ( 87). En orina y músculos se utilizó el método de Jones modificado, utilizando el mismo factor de conversión ( 88 ).

##### d.- DETERMINACION DE AGUA:

Se realizó por diferencia de pesadas entre el peso fresco y el peso seco, luego de 72 hs. en estufa a 100°C.

e.- DETERMINACION DE CALCIO Y FOSFORO:

i ) Preparación de las muestras:

Alicuotas de dieta y heces fueron mineralizadas con una mezcla Nitro-perclórica (1:1) y llevadas al volumen adecuado, con agua desionizada, para su análisis. Las muestras de orina fueron analizadas directamente. Las cenizas fueron disueltas en ClH (c) y llevadas al volumen adecuado para su análisis.

ii) Calcio:

En todas las muestras se determinó por espectrofotometría de Absorción Atómica, utilizando un espectrofotómetro Varian, con llama de aire-acetileno, a 423 nm, con un slit de 0.02 (89), utilizando  $Cl_3La$  en una concentración de 6500 ppm. como supresor de interferencias (90).

iii) Fósforo:

En todos los casos se determinó por el método colorimétrico de Fiske-Subarow a 660 nm (91), en un espectrofotómetro Bauch&Lomb, modelo Spectronic 20.

f) DETERMINACION DE PTH:

Se determinó sobre plasma, mediante el uso de un equipo comercial producido por Inmuno Nuclear Corporation (92).

g) DETERMINACION DE CREATININA:

Se determinó el contenido de Creatinina en orina de 24 hs. por el método colorimétrico del picrato alcalino, modificado de Jaffée (93).

h) DETERMINACION DE POLIETILEN GLICOL:

El PEG se utiliza generalmente como marcador fecal ya que al no ser absorbido, se elimina en un 99%. Por tal motivo, todo el PEG que se encuentre en la orina de los animales en estudio, se debe a contamina-

ción, que podría aportar elementos minerales y nitrógeno, y falsearía entonces los resultados; se determinó PEG en orina. A partir de su contenido se calculó la cantidad de dieta contaminante y, como se conocía exactamente la composición de la misma, se calculó la cantidad de minerales y Nitrógeno contaminante, por diferencia entre el total calculado en orina y el contaminante, se obtuvo la eliminación urinaria real del elemento en estudio.

Se determinó el contenido de PEG tanto en orina como, en la dieta, por el método de Allen and Shedin en un espectrofotómetro Bauch&Lomb a 650 nm (94).

#### 9.- ANALISIS ESTADISTICOS:

Todos los datos fueron analizados estadísticamente aplicando los siguientes test:

- \* Entre los 21 y 28 días de edad: Anova 1 factor con el Test de Duncan como test "a posteriori" para identificar los grupos que presentaban diferencias significativas debidas al consumo de las dietas experimentales y a la dieta libre de proteínas.
- \* Para todas las otras edades: Anova 2 factores con el Test de los Efectos Simples y el Test de Tukey como test "a posteriori" para identificar los grupos que presentaban diferencias significativas debidas al estado nutricional y/o al consumo de las tres dietas experimentales.

En ambos casos se utilizó un nivel de confianza del 99% ( $p < 0.01$ ) (95).

## R E S U L T A D O S

### 1.- CONSUMO DE ALIMENTOS Y PESO CORPORAL

En la tabla 5 se observa el consumo promedio de alimentos y el peso corporal a lo largo de la experiencia. Si bien al comienzo del estudio el consumo fue similar, al avanzar el mismo se observaron diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales. Este resultado es consecuencia de que, al destete, los animales no presentaban diferencias significativas en sus pesos promedios, pero con la edad y la dieta consumida, aparecieron diferencias notables. Este comportamiento era previsible ya que el consumo es una función de la masa metabólica expresada como  $P^{0.73}$  y, por ende, es afectado por el aumento de peso, el que a su vez es afectado por la concentración proteica de la dieta (96).

### 2.- VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

En la tabla 5 se observa el aumento de peso en g./5 días, así como la ganancia ponderal, expresada en gr/100 g rata/día durante los últimos 5 días de estudio correspondientes al período de balance.

El crecimiento de los animales fue satisfactorio durante toda la experiencia; sin embargo, si bien todos los animales aumentaron de peso, la velocidad de crecimiento varió con la dieta utilizada, la edad de los animales y el estado nutricional previo.

En las figuras 12 y 13 pueden observarse comparativamente los pesos promedios y las VGF para los animales normales y desnutridos, alimentados con la misma dieta. En las figuras 9 a 11 se observan los mismos parámetros pero, comparando el efecto de las diferentes dietas según el estado nutricional de los animales (normales o desnutridos). Estos gráficos pueden dividirse según la edad de los ani

T A B L A 5

Edad Días	Porcentaje Relación de Ca/Prot. de Proteínas	Consumo de Alimentos g/día		Peso Promedio= $\bar{P}$ (g)		Velocidad de Ganancia Ponderal (g/100g rata/ D	
		N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	5.4±0.2	3.3±0.2*	36.9± 2.3	30.7± 0.4*	4.90±0.40	-4.10±0.60*
"	20	5.7±0.3	3.3±0.2*	42.9± 1.5	30.7± 0.4*	5.30±0.30	-4.10±0.60*
"	30	5.2±0.3	3.3±0.2*	39.8± 1.1	30.7± 0.4*	4.70±0.50	-4.10±0.60*
30 a 35	10	6.3±0.6	4.5±0.2	43.0± 4.5	34.4± 1.3	5.00±0.70	4.90±0.30
"	20	8.2±0.4	5.5±0.4	68.9± 4.8	44.1± 3.2	5.20±0.30	6.10±1.00
"	30	8.0±0.2	5.5±0.1	49.3± 1.0	37.8± 1.3	8.40±0.40	7.30±0.40
45 a 50	10	7.3±0.5	5.0±0.6	51.8± 3.6	40.0± 3.9	5.30±0.90	3.70±0.20
"	20	11.3±0.5	11.6±0.7	115.4±10.5	117.4± 7.4	2.90±0.50	3.60±0.30
"	30	11.8±0.8	10.0±0.7	103.3± 7.1	80.7± 3.6	5.40±0.50	6.00±0.60
60 a 65	10	11.5±1.4	11.3±0.7	96.2± 9.8	97.3± 5.8	3.20±0.40	3.00±0.40
"	20	10.8±1.0	11.7±0.6	144.9±14.4	148.7± 6.6	2.30±0.30	2.20±0.40
"	30	13.7±0.5	11.0±0.8	180.8±13.0	151.5± 8.5	2.20±0.40	2.00±0.40
90 a 95	10	9.7±0.7	10.8±0.6	131.0± 9.3	140.0± 7.3	1.30±0.40	2.00±0.20
"	20	13.4±0.4	10.7±0.8	244.1±22.0	218.9±22.6	0.61±0.04	0.57±0.04
"	30	16.0±1.1	11.4±1.0	262.7±20.6	173.8± 5.0	0.56±0.04	0.56±0.01

\* Animales alimentados con dieta libre de proteínas. Los datos corresponden a  $\bar{X} \pm$  D.S.

males en tres períodos: 1<sup>o</sup>.- inmediato al destete, de adaptación a la dieta; 2<sup>o</sup>.- de crecimiento acelerado y 3<sup>o</sup> de crecimiento lento, correspondiente al período comprendido entre la pubertad y la edad adulta.

## 2.1 ANIMALES ALIMENTADOS CON 10% DE PROTEÍNAS:

El aumento de peso promedio de las N10% y D10% fue paralelo, aunque el de las N10% fue significativamente mayor hasta los 60 días. A partir de entonces, no se observaron diferencias significativas tendiendo ambos grupos a alcanzar una meseta, en el peso promedio, a los 90 días.

Cuando los resultados se expresaron como velocidad de crecimiento respecto a la masa actual, los N10% aumentaron de peso a mayor velocidad que los D10% correspondientes a la misma edad, durante los dos primeros períodos para no presentar diferencias significativas durante el 3<sup>o</sup> período.

Estos resultados se expresan en las siguientes figuras:

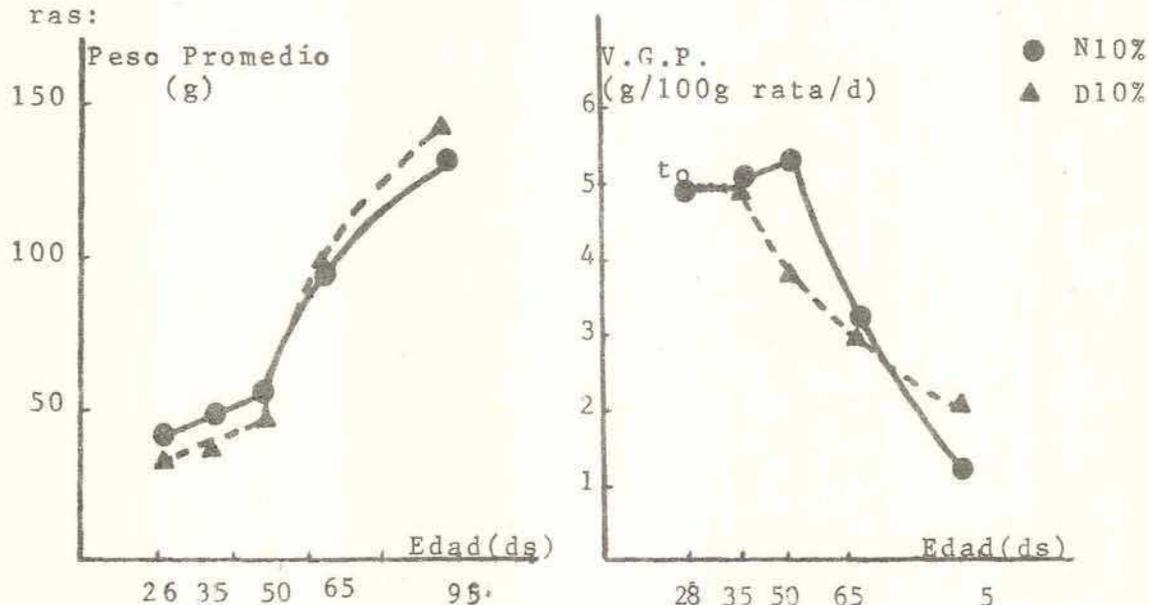


Figura 9 a.

Figura 9 b.

## 2.2 ANIMALES ALIMENTADOS CON 20% DE PROTEÍNAS:

A diferencia de los animales alimentados con 10% de proteínas, los D20% llegaron a alcanzar el peso de sus pares N20% antes de terminar el 2<sup>o</sup> período (50 días de edad), a partir del cual no existieron diferencias en-

tre ambos grupos. Aún a los 90 días la respuesta en el peso promedio fue lineal y no tendió a la meseta que se observara en los animales alimentados con 10% de proteínas.

En cuanto a la VGP, los D20% presentaron mayor VGP que sus pares N20% durante el 2º período, para igualarse a partir del 3º período, en el cual no se observaron diferencias significativas.

Estos resultados se observan en las figuras siguientes:

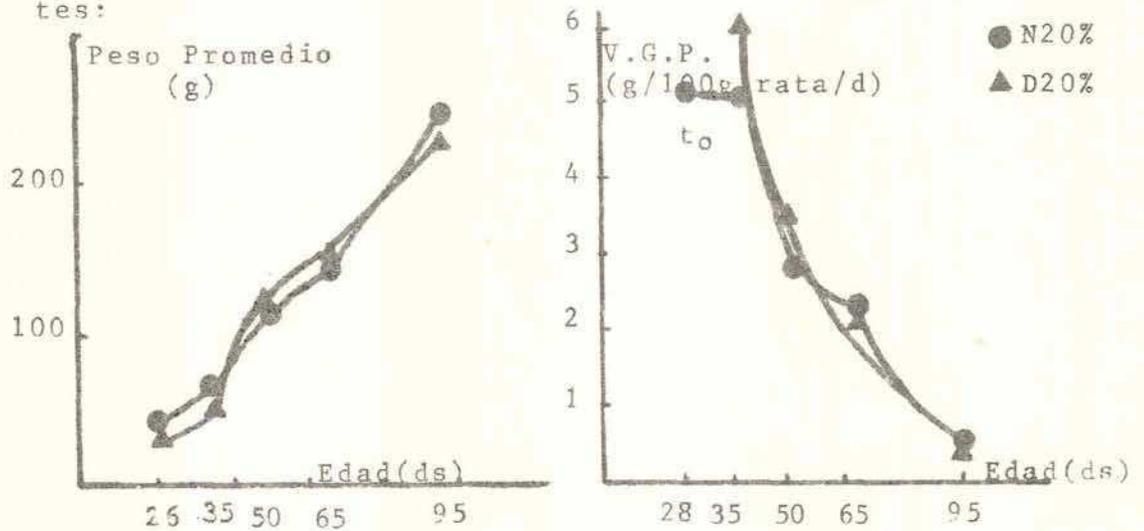


Figura 10 a.

Figura 11 b.

### 2.3 ANIMALES ALIMENTADOS CON 30% DE PROTEINAS:

Durante las tres etapas de la experiencia las D30% presentaron un peso promedio inferior a sus pares N30%; llegándose en ambos casos a una meseta en el peso promedio, alrededor de los 90 días.

La VGP fue menor para los animales D30% al comienzo del 2º período (35 días), para luego igualarse ambos grupos durante el resto de la experiencia.

Estos resultados se observan en las figuras siguientes:

T A B L A 6

Edad Días	% de Prot.	Relación de Ca/Prot.	Balance Nitrogenado		Balance mg/100 g N	Nitrogenado g rata/día D	Variación de peso	
			Balance mg/día N	D			N	D
21 a 26	10	0.06	61.5 ± 6.5	-8.1 ± 0.8*	184.4 ± 11.4	-25.8 ± 2.7*	2.05 ± 0.03	-1.65 ± 0.
"	20	0.03	142.4 ± 9.8	-8.1 ± 0.8*	332.6 ± 30.9	-25.8 ± 2.7*	2.65 ± 0.10	-1.65 ± 0.
"	30	0.02	178.2 ± 16.9	-8.1 ± 0.8*	474.3 ± 30.6	-25.8 ± 2.7*	2.45 ± 0.13	-1.65 ± 0.
30 a 35	10	0.06	79.5 ± 10.9	63.0 ± 3.9	192.4 ± 12.1	190.2 ± 30.3	2.24 ± 0.46	1.68 ± 0.
"	20	0.03	171.8 ± 11.9	106.4 ± 11.9	251.9 ± 17.1	259.5 ± 14.8	2.96 ± 0.26	2.64 ± 0.
"	30	0.02	256.8 ± 11.8	164.5 ± 8.1	521.1 ± 19.7	434.5 ± 14.7	4.16 ± 0.16	2.79 ± 0.
45 a 50	10	0.05	91.2 ± 15.4	80.0 ± 8.2	177.5 ± 16.8	150.8 ± 8.9	2.74 ± 0.38	1.86 ± 0.
"	20	0.03	242.8 ± 17.6	192.3 ± 19.8	207.9 ± 14.0	165.4 ± 10.6	3.30 ± 0.32	4.86 ± 0.
"	30	0.02	287.5 ± 27.4	286.8 ± 17.4	381.3 ± 31.8	355.5 ± 12.5	5.02 ± 0.58	4.52 ± 0.
60 a 65	10	0.06	150.7 ± 19.2	126.1 ± 7.0	146.8 ± 6.5	130.2 ± 5.2	3.70 ± 0.50	2.88 ± 0.
"	20	0.03	264.2 ± 10.4	263.6 ± 15.9	137.3 ± 11.8	183.8 ± 5.8	3.46 ± 0.54	3.32 ± 0.
"	30	0.02	305.2 ± 24.7	307.7 ± 24.7	207.6 ± 8.9	206.1 ± 17.2	4.00 ± 0.36	3.14 ± 0.
90 a 95	10	0.06	198.4 ± 6.7	144.2 ± 8.3	76.2 ± 5.4	81.6 ± 4.9	2.16 ± 0.40	2.82 ± 0.
"	20	0.03	286.2 ± 21.3	263.8 ± 14.5	97.2 ± 5.5	80.2 ± 11.8	1.04 ± 0.62	0.80 ± 0.
"	30	0.02	299.7 ± 23.1	309.7 ± 23.5	96.0 ± 8.8	98.0 ± 9.0	1.16 ± 0.07	1.00 ± 0.

\* Corresponden a los animales alimentados con dieta Libre de Proteínas. Los Datos corresponden a  $\bar{X} \pm D.S.$

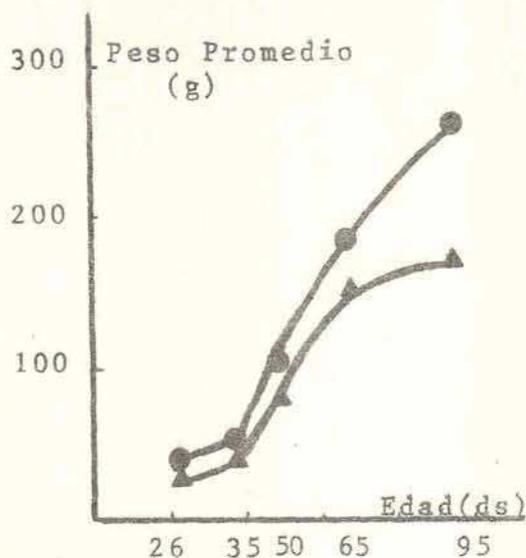


Figura 11 a

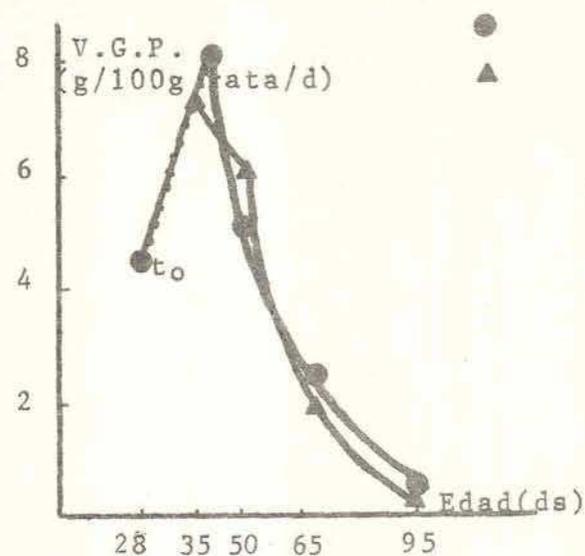


Figura 11 b

#### 2.4 COMPARACION DE LOS ANIMALES NORMALES ALIMENTADOS CON LOS TRES NIVELES DE PROTEINAS:

En las figuras 9a y 10 a se ponen de manifiesto, de acuerdo a la dieta suministrada, las diferencias en los distintos períodos de crecimiento.

Durante el 1<sup>o</sup> período (hasta los 28 días), no se observaron diferencias significativas en el peso promedio para ninguno de los grupos normales; en el 2<sup>o</sup> período, los animales alimentados con 20% de proteínas presentaron los mayores pesos promedios. A los 35 días, los animales N10% y N30% no presentaron diferencias significativas en sus pesos promedios. De los 50 días de edad en adelante, las N10% permanecieron más pequeñas, apartándose de las demás en forma significativa, tal que, al final del 3<sup>o</sup> período tendían a alcanzar su peso definitivo. Durante el 3<sup>o</sup> período, las N30% presentaron los mayores pesos promedios.

En cuanto a la velocidad de ganancia ponderal, durante el 1<sup>o</sup> período las N20% alcanzaron los mayores valores; en el 2<sup>o</sup> período fueron en cambio las N30% las de mayores VGP. Esto se debió a que, durante dicho período, la desaceleración en la VGP de las N20% fue muy grande. Durante el 3<sup>o</sup> período, las N10% presentaron aún VGP considerables,

mientras que, las N20% y N30% estaban alcanzando su nivel de mantenimiento, puesto que sus VGP tendían a cero. Estos resultados se observan en las siguientes figuras:

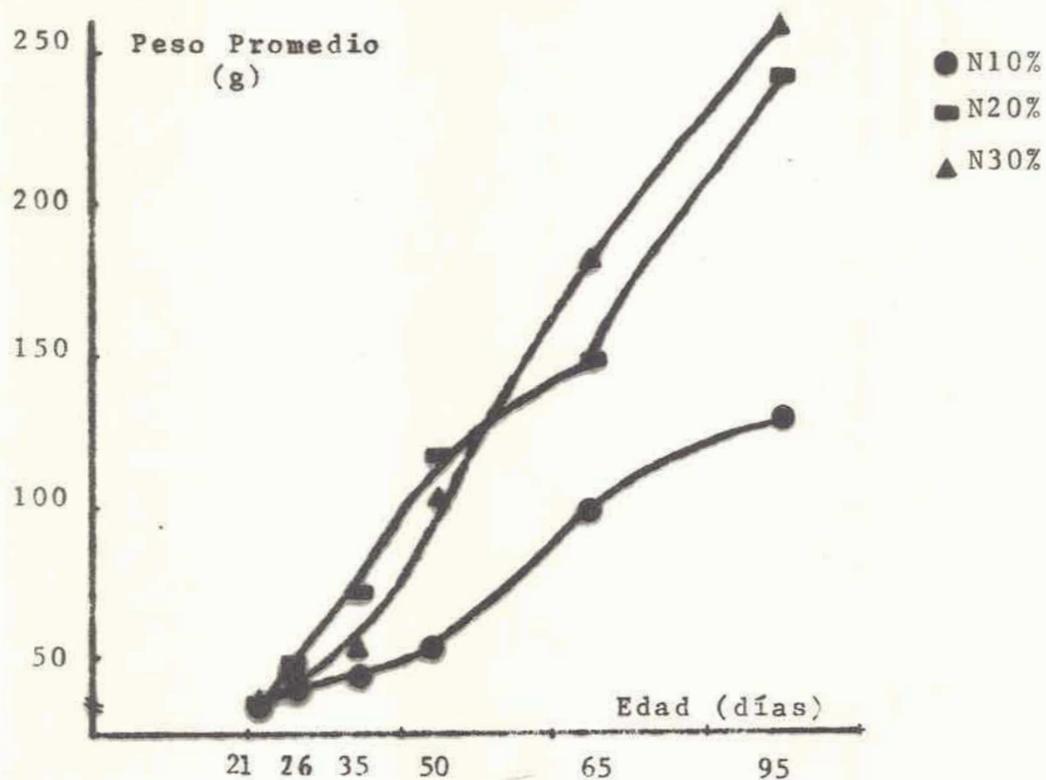


Figura 12 a.

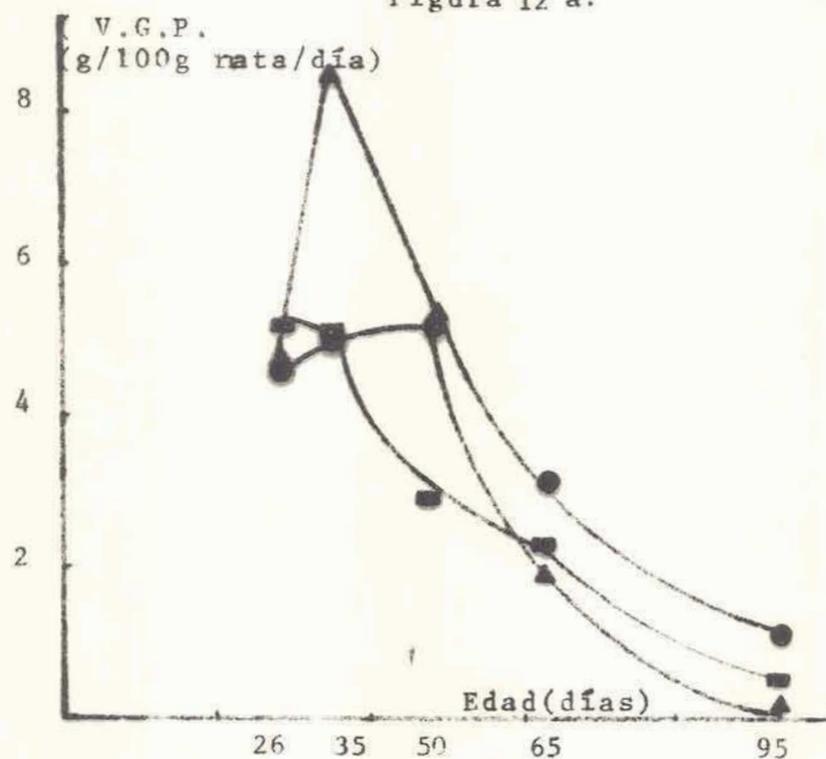


Figura 12b.

## 2.5 COMPARACION DE LOS ANIMALES DESNUTRIDOS REALIMENTADOS CON LOS TRES NIVELES DE PROTEINAS:

Los tres lotes de animales presentaron durante el primer período, en el que fueron sometidos a una dieta libre de proteínas, una pérdida promedio en su peso de un 20%. Dicho valor concuerda con una desnutrición equivalente al grado II en el humano según la clasificación de Gómez (97).

Durante el 2º período, los animales realimentados con 20% de proteínas presentaron los pesos promedios mayores. A los 35 días, las D10% y D30% no presentaron diferencias significativas, pero a partir de los 50 días, las D30% fueron significativamente mayores que las D10%. En el 3º período, en forma similar a las N10%, las D10% fueron las más pequeñas tendiendo a una meseta a los 90 días, mientras que las D20% y D30% presentaron diferencias significativas solamente a los 90 días. Se debe destacar que a dicha edad, los animales D30% tendieron a una meseta, mientras que los D20% continuaron aumentando de peso.

A partir del comienzo de la recuperación nutricional las VGP también presentaron diferencias significativas. Durante los dos últimos períodos las desaceleraciones fueron dependientes de la concentración proteica de la dieta. Los animales D10% a los 30 días, presentaron su mayor VGP con un valor promedio de 4.8 g/100g rata/día y una desaceleración suave en el tiempo: aún a los 90 días presentaron VGP considerables, aproximadamente de unos 2 g/100g rata/día. Los animales D20% presentaron un máximo en su VGP a los 35 días de edad de aproximadamente 6.1 g/100g rata/día, con una desaceleración de tipo logarítmico; los animales D30% presentaron un máximo de alrededor de 7 g/100 g rata/día a los 40 días de vida, para luego sufrir la mayor desaceleración en función de la edad.

Estos resultados se muestran en las siguientes figuras:

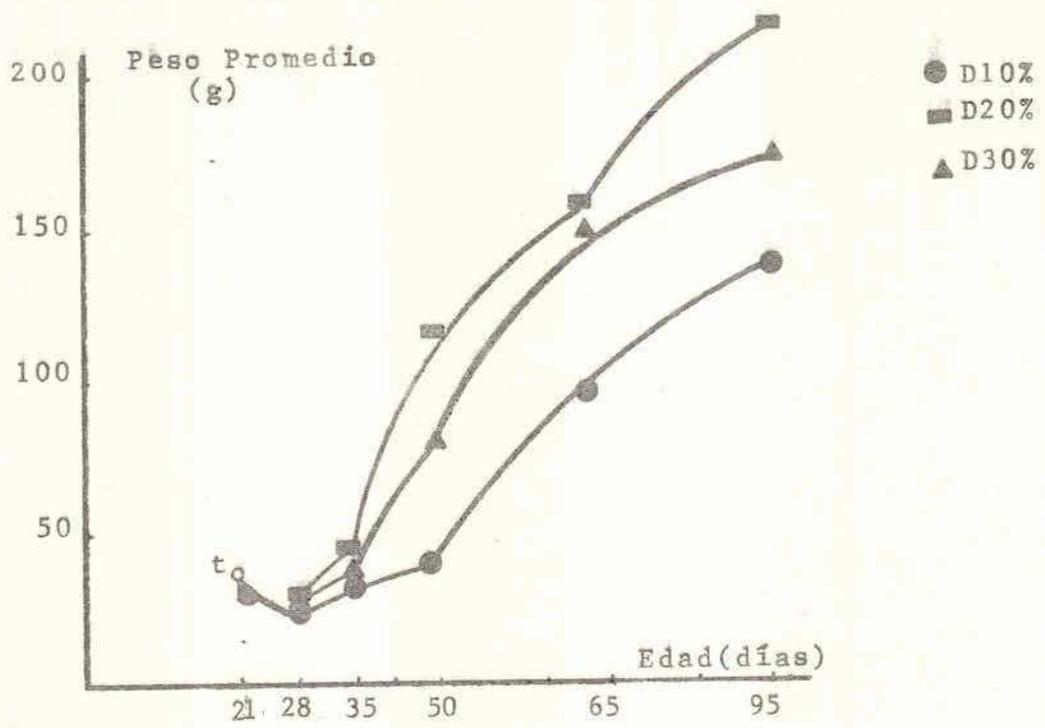


Figura 13 a.

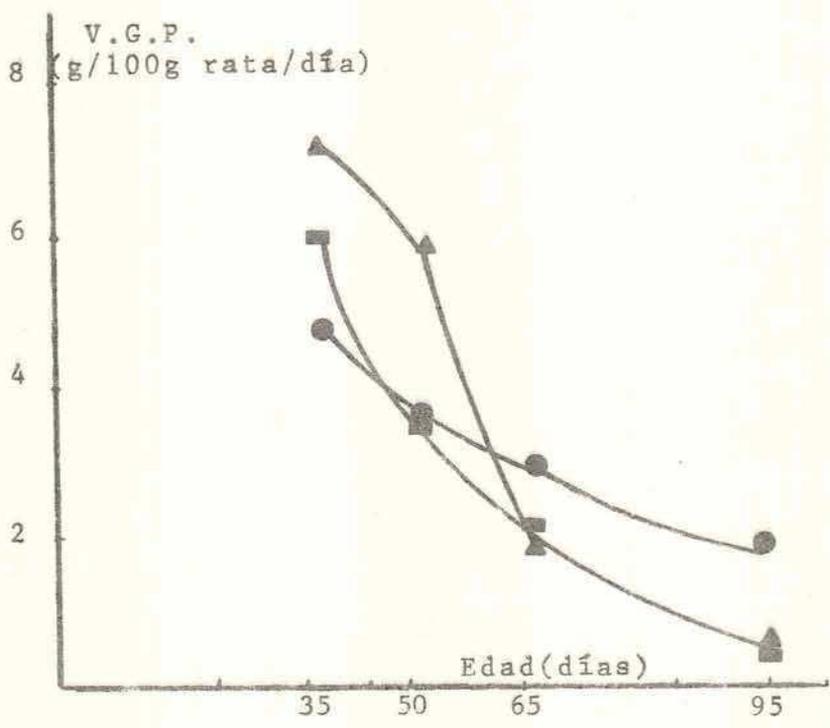


Figura 13 b.

### 3.- ESTUDIOS DE BALANCE NITROGENADO:

En la tabla 6 figuran los balances nitrogenados de los grupos estudiados. Como era de esperar, cuando los resultados se expresaron en mg/100 g rata/día, se observó una disminución en el balance nitrogenado al aumentar la edad de los animales.

#### 3.1 AUMENTO DE PESO Y VELOCIDAD DE GANANCIA PONDERAL EN FUNCION DEL BALANCE NITROGENADO:

Las correlaciones existentes entre la DP y el balance nitrogenado se muestran en la tabla 6. Tanto los animales normales como los desnutridos presentaron una correlación entre el aumento de peso y el balance nitrogenado total (mg/día) durante los períodos 1º y 2º; tal correlación desapareció para las dietas correspondientes al 20 y 30% de proteínas al final del 3º período, en el cual la VGP tendió a cero. Los animales alimentados con 10% de proteínas, que aún presentaban a los 90 días VGP considerables, siguen mostrando tal correlación; pese a ésto, cuando se elimina el punto correspondiente a los animales N10% de 90 días el coeficiente de correlación mejora notablemente ( $r=0.77$  vs.  $0.86$ ), tal como puede verse en la siguiente tabla:

Incluido N10% ó D10%	No incluido N10% ó D10%
N: $DP=0.0084RN + 1.650; r=0.78$	$DP=0.0086BN + 1.717, r=0.86$
D: $DP=0.0079BN + 1.635; r=0.75$	$DP=0.0079BN + 1.626; r=0.75$

Todos los valores se ajustaron a una misma función cuando los incrementos de peso se expresaron en relación a la masa actual de los animales, o sea cuando se expresó en g/100 g rata/día y los balances nitrogenados en mg/100 g rata/día:

$$N: VGP = 0.015 BN + 0.470 \quad r=0.88$$

$$D: VGP = 0.018 BN + 0.530 \quad r=0.87$$

$$N \text{ y } D: VGP = 0.014 BN + 0.627 \quad r=0.82 \quad \text{ecuación 1}$$

De todo lo expuesto se confirma la estrecha relación existente entre la VGP y el balance nitrogenado, así como la dependencia de ambos con la concentración proteica de la dieta, mientras que el estado nutricional no mostró tener influencia sobre la relación existente entre el aumento de peso y el balance nitrogenado.

#### 4.- ESTUDIOS DE LOS BALANCES DE CALCIO Y FOSFORO

En las tablas 7 a 10 pueden observarse, para todos los grupos de animales estudiados, los valores correspondientes a la ingesta y eliminaciones urinaria y fecal, así como los balances absolutos para el Ca y Fósforo, respectivamente.

##### 4.1 CALCIO Y FOSFORO FECAL

La relación existente entre el Ca fecal y la ingesta de Ca se observa en las figuras 14a y b. El Ca fecal aumenta con el Ca ingerido, tanto para animales normales como para desnutridos. Al comparar las distintas dietas entre sí se verificó que, durante el crecimiento, el aumento en la concentración proteica de la dieta, no afectó al Ca fecal, tal como ha sido descrito previamente en la literatura (23,24).

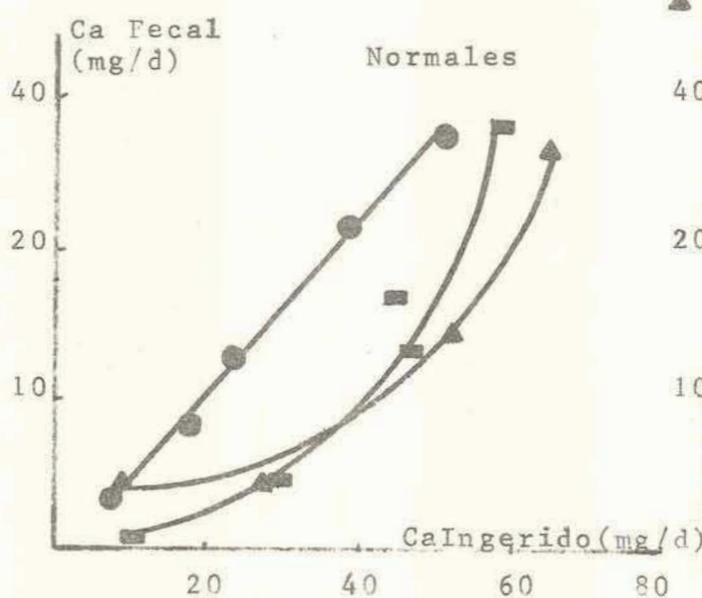


Figura 14a.

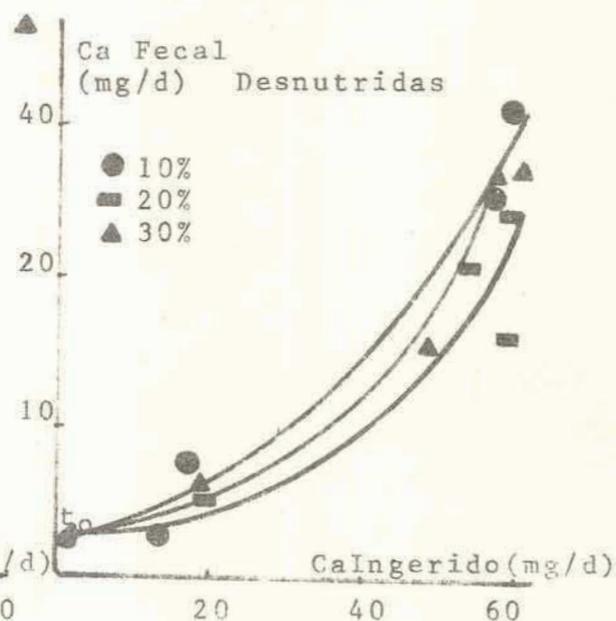


Figura 14b.

T A B L A 7

Edad Días	% de Prot.	Relación Ca/Prot.	Calcio Ingerido mg/día		Calcio Urinario mg/día		Calcio Fecal mg/día		Balance de Calcio mg/día	
			N	D	N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	33.9±3.1	19.6±1.5*	0.59±0.08	0.09±0.01*	3.6±0.5	2.9±0.2*	29.7±2.7	16.6±1.4*
"	20	0.03	37.4±1.8	19.6±1.5*	0.58±0.03	0.09±0.01*	0.8±0.1	2.9±0.2*	36.1±1.8	16.6±1.4*
"	30	0.02	35.1±2.2	19.6±1.5*	0.79±0.07	0.09±0.01*	4.4±0.5	2.9±0.2*	30.0±1.9	16.6±1.4*
30 a 35	10	0.06	43.6±3.8	30.7±1.2	0.44±0.04	0.46±0.09	8.1±1.4	2.9±0.6	35.0±2.9	27.2±1.5
"	20	0.03	54.0±2.6	36.0±2.8	1.03±0.11	0.97±0.22	4.7±0.2	5.7±0.4	48.3±2.5	29.3±2.5
"	30	0.02	54.0±1.3	37.0±0.7	1.35±0.13	0.99±0.14	4.6±0.6	6.5±0.5	48.1±1.4	29.5±0.8
45 a 50	10	0.06	50.1±3.7	34.4±4.0	0.61±0.09	0.58±0.14	12.9±1.6	8.1±1.2	36.4±2.6	25.8±2.9
"	20	0.03	74.3±3.1	75.9±4.8	0.69±0.07	0.55±0.08	13.4±2.9	16.5±0.8	60.0±1.8	58.8±4.1
"	30	0.02	79.2±5.6	67.4±4.5	1.31±0.17	1.09±0.16	14.9±1.1	15.2±1.9	62.8±5.3	50.8±3.0
60 a 65	10	0.06	78.7±4.8	77.3±4.6	0.68±0.16	0.93±0.13	27.1±5.2	32.9±4.8	49.9±8.3	43.5±5.4
"	20	0.03	70.9±6.7	77.0±4.1	0.98±0.11	1.10±0.20	17.1±1.5	24.7±1.2	53.0±5.6	51.2±3.8
"	30	0.02	92.7±3.7	74.0±5.6	1.40±0.17	1.06±0.17	26.6±3.8	27.4±2.7	64.7±2.8	45.6±4.1
90 a 95	10	0.06	66.4±4.8	74.4±4.3	0.57±0.09	0.94±0.10	20.8±2.5	26.2±3.3	45.1±3.0	47.3±2.9
"	20	0.03	87.8±2.6	70.2±5.4	1.83±0.14	1.56±0.22	28.6±2.6	21.2±2.1	57.2±3.5	46.7±5.2
"	30	0.02	108.1±7.4	76.9±6.5	1.79±0.19	0.65±0.11	38.5±6.2	27.4±2.5	67.8±2.5	48.6±4.0

\* Datos correspondientes a los animales alimentados con dieta libre de proteínas. Los valores corresponden a la  $\bar{X} \pm D.S.$

T A B L A 8

Edad Días	% Proteína	Relac. Ca/Prot	Balance de Calcio mg/100 g/día		Calcio Absorbido mg/día		Porcentaje de Absorción de Calcio	
			N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	79.8±4.1	54.2±4.2*	30.3±2.8	16.7±1.4*	89.3±0.9	84.9±1.5*
"	20	0.03	85.7±6.5	54.2±4.2*	36.6±1.8	16.7±1.4*	98.1±0.5	84.9±1.5*
"	30	0.02	79.8±2.9	54.2±4.2*	30.8±1.9	16.7±1.4*	87.6±1.1	84.9±1.5*
30 a 35	10	0.06	81.6±3.8	79.0±2.7	35.5±2.9	27.8±1.4	81.7±2.1	90.4±1.9
"	20	0.03	70.7±1.6	67.0±4.8	49.4±2.5	30.1±2.6	91.3±0.3	83.5±1.5
"	30	0.02	97.8±2.7	77.8±1.5	49.4±1.5	30.5±0.9	91.4±1.3	82.2±2.5
45 a 50	10	0.06	70.4±4.3	65.4±2.9	37.2±2.6	26.4±3.0	74.4±2.2	76.9±2.1
"	20	0.03	52.2±3.1	50.8±1.6	60.7±1.8	59.3±4.1	82.3±3.1	78.0±0.8
"	30	0.02	60.2±4.2	64.8±3.3	64.4±5.4	52.3±2.8	81.7±1.7	77.8±1.8
60 a 65	10	0.06	50.5±5.7	45.0±5.4	50.5±8.4	44.4±5.5	62.5±4.8	56.6±6.0
"	20	0.03	36.5±0.3	34.2±1.8	53.8±5.7	52.3±3.9	75.7±1.4	68.1±2.1
"	30	0.02	36.5±2.5	31.6±2.3	66.1±2.7	46.6±4.3	71.7±3.4	62.8±2.6
90 a 95	10	0.06	34.7±1.2	32.3±2.0	45.7±3.1	49.8±2.9	69.2±2.1	65.3±3.0
"	20	0.03	24.0±2.2	22.3±2.4	59.0±3.5	49.0±2.1	67.2±3.0	69.1±3.4
"	30	0.02	26.4±1.4	22.3±2.0	69.6±2.5	49.5±4.0	65.5±3.4	64.4±0.3

\* Datos correspondientes a los animales alimentados con dieta libre de proteínas. Los valores corresponden a  $\bar{X} \pm D.S.$

T A B L A 9

Edad Días	% de Prot	Rel. Ca/ Prot.	Fósforo Ingerido		Fósforo Urinario		Fósforo Fecal		Balance de Fósforo	
			N	D	N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	21.0±1.9	13.1±1.0*	1.27±0.15	0.22±0.06*	2.40±0.45	2.75±0.26*	17.5±1.6	10.1±0.9*
"	20	0.03	24.9±1.2	13.1±1.0*	1.06±0.09	0.22±0.06*	1.03±0.09	2.75±0.26*	22.8±1.3	10.1±0.9*
"	30	0.02	25.5±1.5	13.1±1.0*	0.86±0.12	0.22±0.06*	4.30±0.67	2.75±0.26*	18.4±1.0	10.1±0.9*
30 a 35	10	0.06	27.0±2.4	19.0±0.7	0.19±0.06	0.05±0.01	7.50±0.77	4.29±1.02	21.1±2.4	14.7±1.4
"	20	0.03	36.0±1.7	24.0±1.9	1.46±0.04	0.69±0.08	2.83±0.18	4.04±0.44	31.7±1.7	19.0±1.9
"	30	0.02	36.2±0.9	24.8±0.5	1.43±0.09	1.34±0.08	3.68±0.49	6.25±0.50	31.1±0.8	17.0±0.4
45 a 50	10	0.06	31.0±2.2	21.3±2.5	0.34±0.07	0.33±0.07	11.26±0.96	8.15±0.70	17.9±2.8	12.7±1.8
"	20	0.03	49.6±2.1	50.6±3.2	2.33±0.13	2.11±0.15	15.42±2.75	22.16±2.08	31.8±1.1	29.9±3.2
"	30	0.02	53.2±3.8	45.2±3.0	2.89±0.15	2.74±0.17	16.36±2.81	14.08±2.38	33.9±2.2	28.4±1.0
60 a 65	10	0.06	54.0±6.2	47.8±2.9	1.62±0.29	1.23±0.09	20.92±3.60	22.82±3.17	29.1±5.2	24.8±3.4
"	20	0.03	47.3±4.5	51.3±2.8	2.96±0.10	3.10±0.29	16.72±1.56	22.02±0.56	27.6±3.4	24.5±3.0
"	30	0.02	62.2±2.5	49.7±3.8	3.37±0.18	2.74±0.41	26.72±4.70	25.01±1.06	32.1±3.4	21.9±3.2
90 a 95	10	0.06	41.1±3.0	46.1±2.7	1.79±0.15	1.77±0.03	19.94±1.14	19.26±1.68	17.9±2.5	21.2±2.9
"	20	0.03	58.4±1.7	46.8±3.6	2.61±0.16	2.42±0.25	20.00±1.07	17.74±2.56	35.9±2.0	26.7±4.2
"	30	0.02	72.5±4.9	51.6±4.4	3.32±0.27	2.83±0.12	40.32±7.67	28.79±2.87	28.9±3.9	30.0±2.3

\* Correspondiente a los animales que fueron alimentados con la dieta libre de proteínas. Los datos corresponden a  $\bar{X} \pm D.S.$

T A B L A 10

Edad Días	% de Prot.	Rel. Ca/ Prot.	Balance de Fósforo mg/100 g rata/día		Fósforo Absorbido mg/día		Porcentaje de Absor- ción de Fósforo	
			N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	47.2±2.1	33.0±2.5*	18.6±1.6	10.3±0.9*	38.8±1.5	78.1±1.2*
	"	20	53.7±4.2	33.0±2.5*	23.9±1.2	10.3±0.9*	95.8±0.5	78.1±1.2*
	"	30	49.8±1.6	33.0±2.5*	19.2±1.2	10.3±0.9*	82.0±2.4	78.1±1.2*
30 a 35	10	0.06	49.2±1.9	42.8±3.7	15.8±3.9	14.6±1.3	78.5±4.6	77.1±5.4
	"	20	46.3±1.3	43.5±4.2	33.2±1.7	19.5±2.0	92.1±0.5	81.1±2.7
	"	30	63.1±2.4	45.0±4.6	32.6±0.9	18.3±0.5	88.4±2.5	70.7±2.2
45 a 50	10	0.06	33.8±4.7	31.6±1.6	19.3±1.4	13.1±1.9	57.1±6.2	60.8±2.3
	"	20	27.8±2.4	26.0±1.6	34.1±1.1	31.7±3.2	69.5±4.3	62.1±2.4
	"	30	32.0±1.5	35.2±1.5	36.8±2.2	31.1±1.1	68.7±5.5	69.9±4.0
60 a 65	10	0.06	29.9±3.6	25.8±3.3	31.3±2.7	25.0±3.5	59.3±5.1	50.0±5.5
	"	20	19.0±1.2	16.3±1.6	30.6±3.5	29.5±2.7	64.3±2.5	53.2±3.9
	"	30	18.2±2.0	13.4±2.0	35.1±3.7	25.7±4.0	47.1±6.9	57.8±6.5
90 a 95	10	0.06	13.7±1.1	15.2±1.9	21.1±2.0	26.8±1.7	47.9±4.0	50.0±6.2
	"	20	14.7±1.7	12.5±1.9	38.0±1.7	29.1±4.1	62.1±5.1	61.4±6.0
	"	30	11.2±1.9	17.2±1.1	32.2±3.7	22.8±2.4	46.0±6.7	40.4±5.3

\* Datos correspondientes a los animales alimentados con la dieta libre de proteínas.  
Los valores corresponden a la  $\bar{X} \pm D.S.$

Las ecuaciones de correlación de las figuras figuran a continuación:

N y D10%	Ca Fe = 0.503	ICa - 11.052	r=0.970
N y D20%	Ca Fe = 0.386	ICa - 9.670	r=0.885
N y D30%	Ca Fe = 0.408	ICa - 9.456	r=0.907
N y Dtotal	Ca Fe = 0.434	ICa - 10.781	r=0.896 ecuación 2

Independientemente del nivel proteico de la dieta y del estado nutricional previo, los animales presentaron una eliminación fecal de Fósforo que fue una función del Fósforo ingerido.

N Y D10%	P Fe = 0.548	IP - 5.672	r=0.96
N y D20%	P Fe = 0.528	IP - 8.743	r=0.90
N y D30%	P Fe = 0.640	IP - 10.916	r=0.91
N y Dtotal	P Fe = 0.593	IP - 9.434	r=0.90 ecuación 3

#### 4.2 ABSORCION DE CALCIO Y FOSFORO:

Como era de esperar tanto el porcentaje de absorción de Ca como el de Fósforo disminuyó con la edad.

Para los animales normales, durante el 1º período, el mayor %ACa lo presentaron los N20% y durante el 2º período los N20% y N30%, que no presentaron entre ellos diferencias significativas; en el 3º período, en cambio, no se observaron diferencias significativas entre las tres dietas experimentales. Para los animales desnutridos, en general, se observó el mismo comportamiento que para los animales normales.

Cuando, para una misma dieta experimental, se compararon los %ACa en función del estado nutricional, se observó que durante el crecimiento acelerado, los D10% presentaron un mayor %ACa que sus pares N10%, desapareciendo dichas diferencias en el 3º período. Los animales N20% y N30% presentaron, en cambio, mayor %ACa que sus pares desnutridos, pero sólo hasta los 35 días de edad; a partir

de la cual no se observaron más diferencias significativas. Estos resultados se esquematizan en la figura 15.

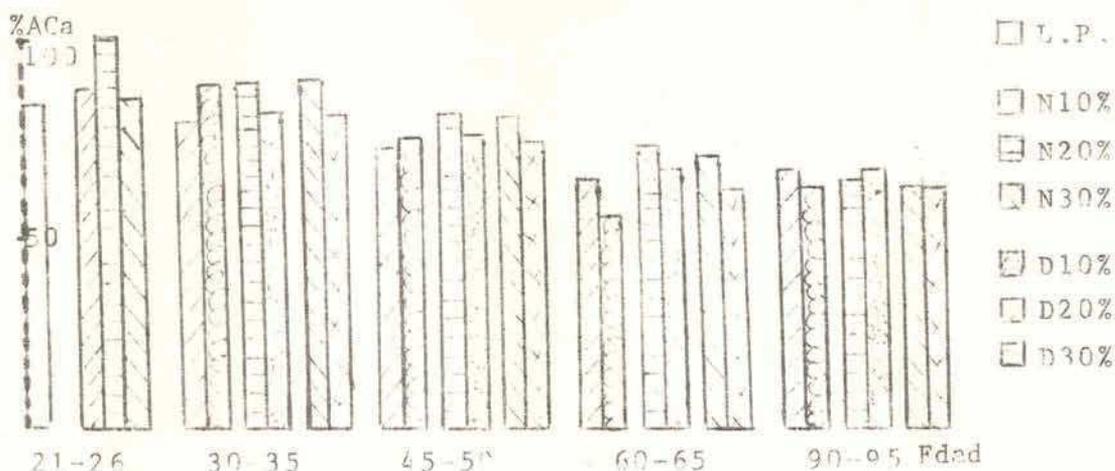


Figura 15

En cuanto al %AP, al comparar las tres dietas experimentales entre sí, se observó el mismo comportamiento que para el Ca. Cuando se consideró cada dieta por separado, para los dos estados nutricionales estudiados, se observó que, las N10% y D10% no presentaron diferencias significativas entre ellas; las N20% sólo presentaron diferencias significativas respecto de sus pares D20% durante el 2º período; las N30% presentaron mayores %AP que sus pares D30% únicamente a los 35 días, luego de lo cual no mostraron diferencias significativas. Estos resultados se muestran esquemáticamente en la figura 16.

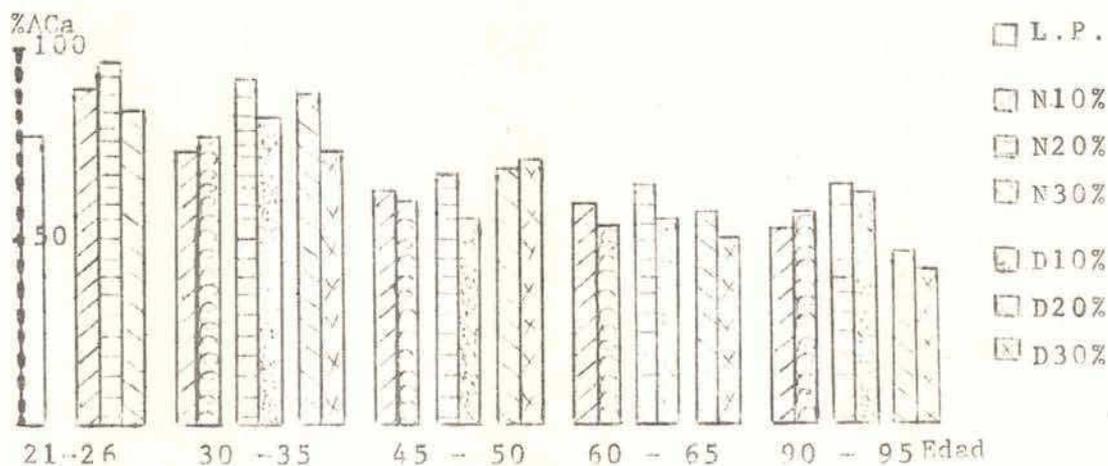


Figura 16

#### 4.3 CALCIO Y FOSFORO URINARIOS:

Es de interés destacar que en todos los casos, e independientemente de la edad, estado nutricional y concentración proteica de la dieta, el Ca urinario correspondió a una fracción sumamente pequeña del Ca ingerido. Además, cabe acotar que el CaU mostró una baja correlación con el Ca ingerido, a excepción de los animales alimentados con 10% de proteínas (N y D10%), donde el valor de la pendiente fue tan bajo que prácticamente las variaciones en la ingesta no introdujeron modificaciones sobre los valores de excreción basal.

N y D total	Ca U = 0.012 I <sub>Ca</sub> + 0.164	r=0.65	ecuación 4
N y D10%	Ca U = 0.009 I <sub>Ca</sub> + 0.124	r=0.81	
N y D20%	Ca U = 0.015 I <sub>Ca</sub> + 0.057	r=0.65	
N y D30%	Ca U = 0.013 I <sub>Ca</sub> + 0.209	r=0.77	

Por el contrario, tanto para los animales normales como para los desnutridos, el PU mostró una buena correlación con el PI, sin diferencias significativas debidas al estado nutricional. Aún cuando la eliminación fue cuantitativamente mayor para los animales que consumieron la dieta al 20 y 30% de proteínas, ello se debió fundamentalmente a la mayor ingesta de estos animales. La eliminación urinaria de Fósforo vs. la ingesta de Fósforo mostró la siguiente ecuación de regresión, que incluye tanto a los animales normales como a los desnutridos de las tres dietas experimentales estudiadas:

$$P U = 0.0607 IP - 0.7016 \quad r=0.877 \quad \text{ecuación 5}$$

#### 4.4 BALANCES DE CALCIO Y DE FOSFORO:

Tal como puede verse en las figuras 17 a,b y c, el balance de Ca aumentó en función de la ingesta de Ca, tanto para los animales normales como para los desnutridos, llegándose en todos los casos a una meseta que, en el tiempo, varió de acuerdo al porcentaje de proteínas de la dieta utilizada. Así, los animales N10% y D10% alcanza-

ron la meseta a los 60 días de edad, tendiendo a un valor de balance de Ca de 50 mg/día. Los animales N20% y D20% alcanzaron dicha meseta a los 45 días, con un valor en el balance de Ca de alrededor de 55 mg/día. Por el contrario, los animales alimentados con 30% de proteínas mostraron diferencias significativas entre normales y desnutridos; si bien ambas alcanzaron la meseta a los 45 días de edad, las N30% tendieron a un valor en el balance de Ca de 65 mg/día, mientras que las D30% se estabilizaron alrededor de los 50 mg/día.

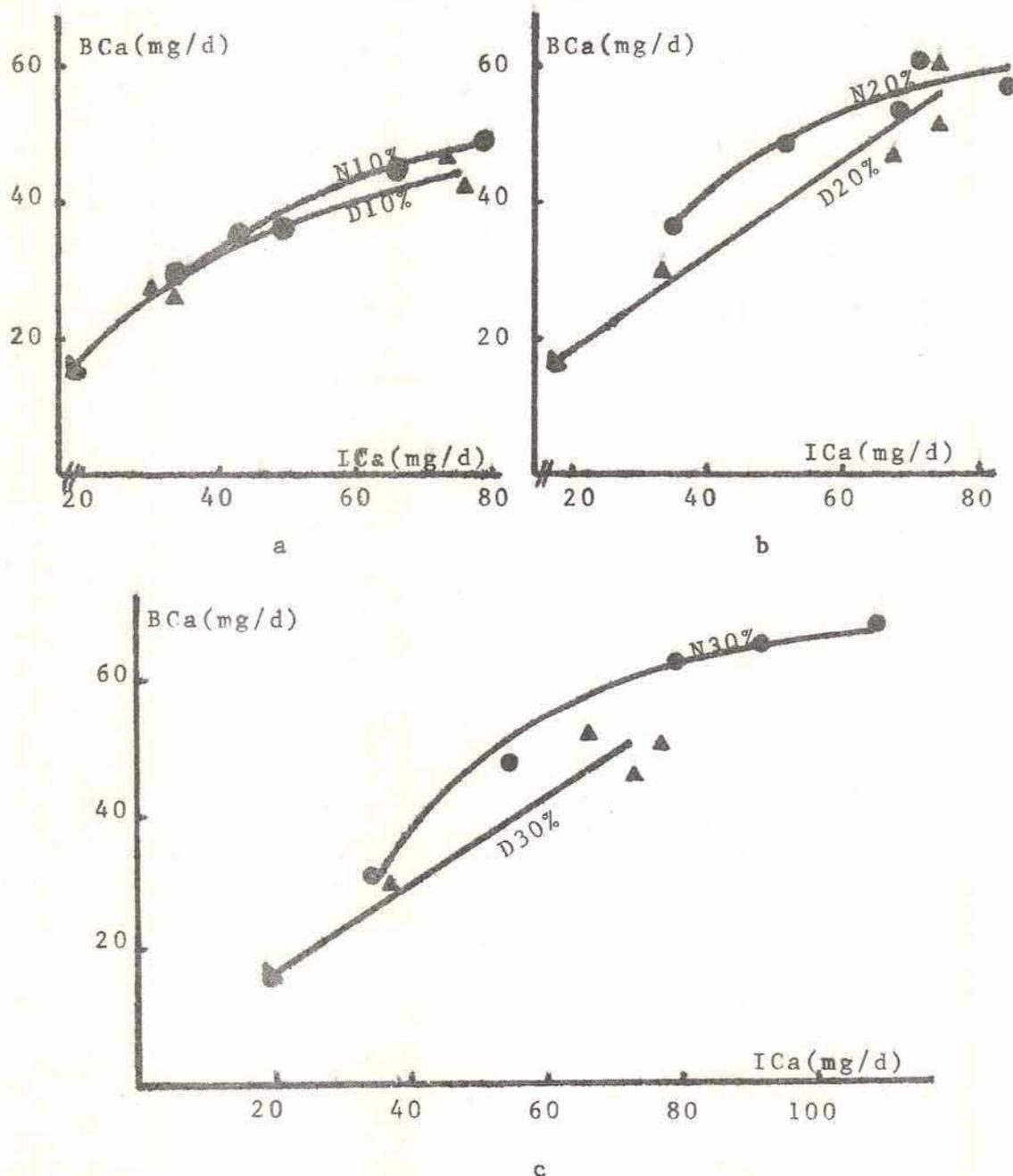


Figura 17

T A B L A 11

Edad Días	% de Prot.	Relac. Ca/ Prot.	Paratohormona ng/l		Paratohormona ng/100g rata/l		Vitamina D Ingerida U.I./día		Eficiencia de A. mg Ca absorbido/U.I.V	
			N	D	N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	2.8±0.7	0.7±0.1*	7.3±2.4	3.5±0.7*	10.8±0.2	6.6±0.2*	3.43±0.00	2.55±0.00
"	20	0.03	3.8±1.0	0.7±0.1*	7.9±2.8	3.5±0.7*	11.4±0.3	6.6±0.2	3.21±0.01	2.55±0.00
"	30	0.02	0.7±0.1	0.7±0.1*	1.7±0.4	3.5±0.7*	10.4±0.3	6.6±0.2*	2.96±0.04	2.55±0.00
30 a 35	10	0.06	3.8±1.0	6.2±1.3	7.3±2.4	16.1±3.4	12.6±0.6	9.0±0.2	2.80±0.03	3.07±0.00
"	20	0.03	8.0±0.7	7.0±1.0	10.4±1.0	13.6±2.2	16.4±0.4	11.0±0.4	3.00±0.01	2.74±0.00
"	30	0.02	3.5±0.5	1.4±0.1	5.9±0.9	5.9±2.0	16.0±0.2	11.0±0.1	3.09±0.04	2.78±0.00
45 a 50	10	0.06	8.3±1.3	14.8±3.6	14.2±2.2	35.8±8.2	14.6±0.5	10.0±0.6	2.56±0.07	2.66±0.00
"	20	0.03	12.4±3.6	12.7±5.6	10.2±3.2	10.1±4.0	22.6±0.5	23.2±0.6	2.69±0.12	2.56±0.00
"	30	0.02	4.7±1.5	9.6±2.4	4.0±1.2	10.4±2.4	23.6±0.8	20.0±0.7	2.72±0.05	2.61±0.00
60 a 65	10	0.06					22.9±1.4	22.6±0.7	2.28±0.13	1.97±0.00
"	20	0.03					21.6±1.0	23.4±0.6	2.48±0.05	2.21±0.00
"	30	0.02					27.4±0.5	22.0±0.8	2.40±0.11	2.12±0.00
90 a 95	10	0.06					19.4±0.7	21.6±0.6	2.38±0.08	2.32±0.00
"	20	0.03					26.8±0.4	21.4±0.8	2.20±0.10	2.23±0.00
"	30	0.02					32.0±1.1	22.8±1.0	2.20±0.11	2.17±0.00

\* Datos correspondientes a los animales alimentados con dieta libre de proteínas. Los valores se expresan como  $\bar{X} \pm$  D.S.

El comportamiento para el Fósforo fue similar aunque no se observaron diferencias significativas entre normales y desnutridas para ninguno de los niveles proteicos utilizados.

Al representar el balance de Ca en función del balance de Fósforo se obtuvo una única línea recta sin que se encontraran diferencias significativas entre animales normales y desnutridos alimentados con las diferentes dietas experimentales:

$$N \text{ y D totales } BCa = 1.731 BP + 2.391 \quad r=0.90 \text{ Ecuación 6}$$

Debido a lo irrelevante de la pérdida urinaria, el balance de Ca fue en todos los casos una función lineal del Ca absorbido, sin diferencias significativas en cuanto al estado nutricional o nivel proteico de la dieta utilizada:

$$N \text{ y D totales } BCa = 1.000 A Ca - 0.634 \quad r=0.999 \text{ Ecuación 7}$$

Si bien la eliminación urinaria de Fósforo fue un poco mayor, al graficar el balance de Fósforo en función del Fósforo absorbido, también se observó una muy buena correlación lineal entre ellos, sin diferencias significativas en el estado nutricional o nivel proteico de la dieta utilizada:

$$N \text{ y D totales } BP = 0.845 PA + 2.527 \quad r=0.943 \text{ Ecuación 8}$$

#### 5.- NIVELES DE PARATHORMONA DURANTE EL CRECIMIENTO:

Para el estudio de PTH, se seleccionó el 1º y 2º períodos, por corresponder a los grupos que aún no habían alcanzado el estado de equilibrio. (tabla 1D).

Tanto en los animales normales como en los desnutridos, los niveles de PTH aumentaron con la edad, pero con ciertas diferencias según la dieta experimental asignada. A los 28 días, los niveles de PTH en los animales normales no presentaron diferencias significativas entre las dietas experimentales. A los 35 días, los animales N107

y N30% no presentaron diferencias significativas entre ellos; mientras que los animales N20% presentaron comparativamente los niveles más elevados, comportamiento que se mantuvo a los 45 días.

En cuanto a los animales desnutridos, el punto común de partida para todas las dietas correspondió al nivel de PTH determinado en los animales que consumieron la dieta libre de proteínas durante 7 días ( $x_0$ ). A los 35 días y 50 días sólo se observaron diferencias significativas en el grupo D30% cuyos niveles fueron menores a los otros dos grupos (Figuras 18 a y b).

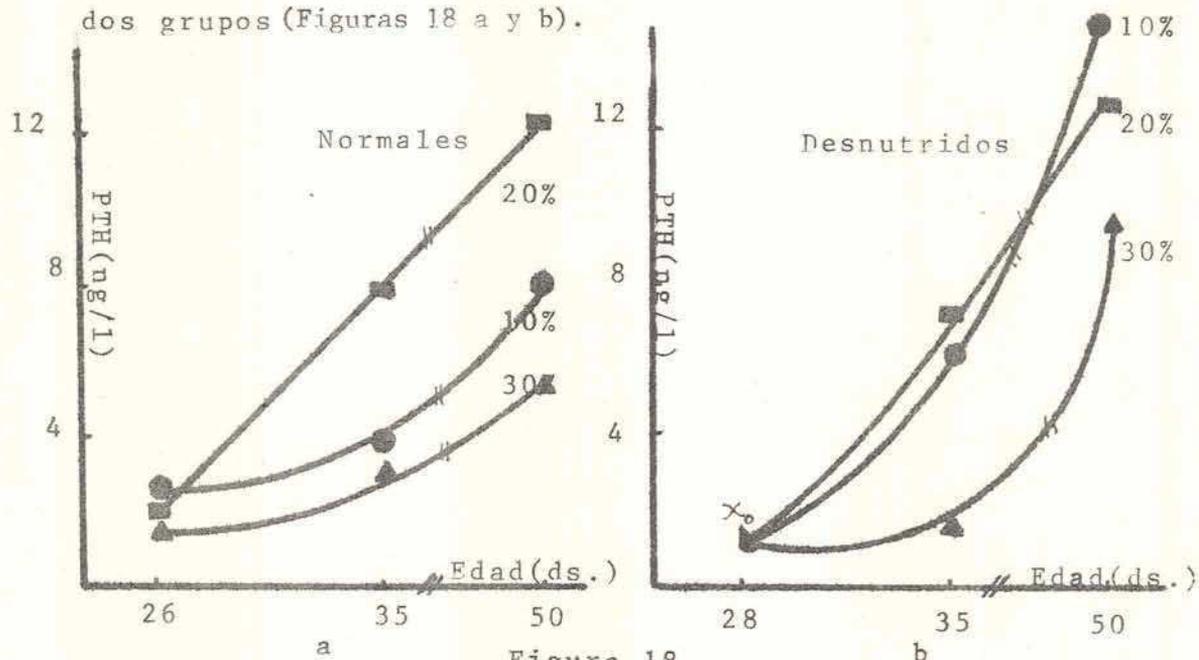


Figura 18  
5.1 BALANCES TOTALES DE CALCIO Y FOSFORO EN RELACION A LOS NIVELES DE PARATOHORMONA:

Un aumento en el balance de Ca total, expresado en mg/día se observó al aumentar los niveles de PTH. Los animales del grupo N10%, alcanzaron una meseta a partir de los de los 5 ng/l correspondiente a unos 35 mg/día en el balance de Ca. Los animales N20% mostraron un franco aumento en el balance de Ca con el aumento en los niveles de PTH, alcanzándose un balance de Ca de 60 mg/día. Los animales N30%, para pequeños aumentos en los niveles de PTH mostraron grandes aumentos en el balance de Ca,

llegando a valores similares a los del grupo N20%, con niveles de PTH plasmática tres veces inferiores (Figura 19).

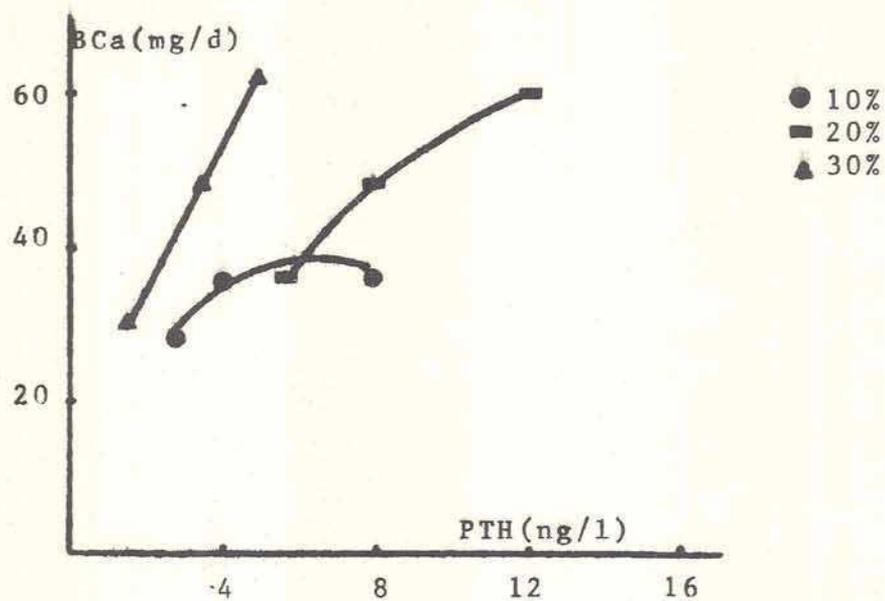


Figura 19

El comportamiento del balance de Fósforo fue similar al del balance de Ca, a excepción de que en los animales correspondientes al grupo N20%, el balance de Fósforo alcanzó una meseta a partir de los 8 ng/l de PTH (Figura 20),

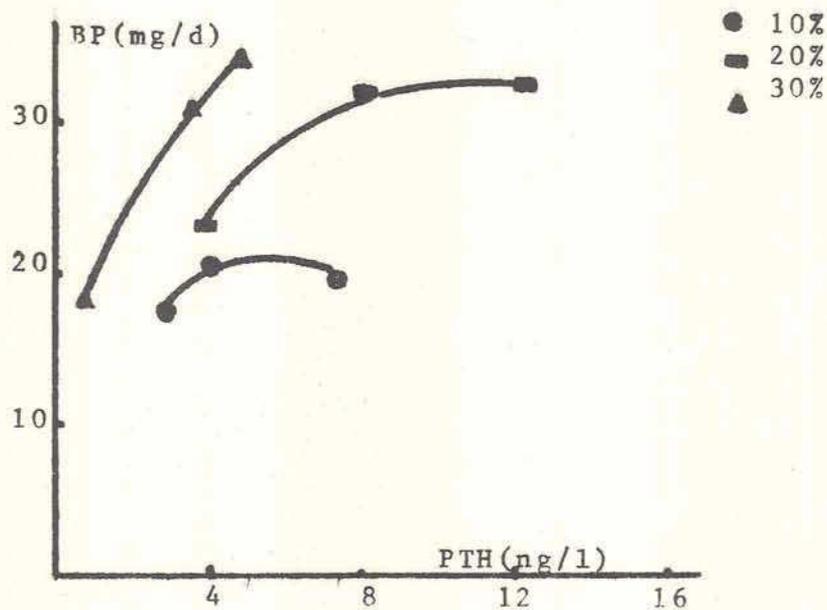


Figura 20

Partiendo del punto común de  $x_0$ , se observó que para los animales desnutridos, los animales D10% no presentaron cambios significativos en el balance de Ca, a pesar de grandes cambios producidos en los niveles de PTH. Los animales D20% y D30% mostraron una relación lineal entre ambos parámetros. Al igual que en los animales normales, en los animales desnutridos el balance de Fósforo presentó un comportamiento similar al balance de Ca en función de los niveles de PTH (Figuras 21 y 22).

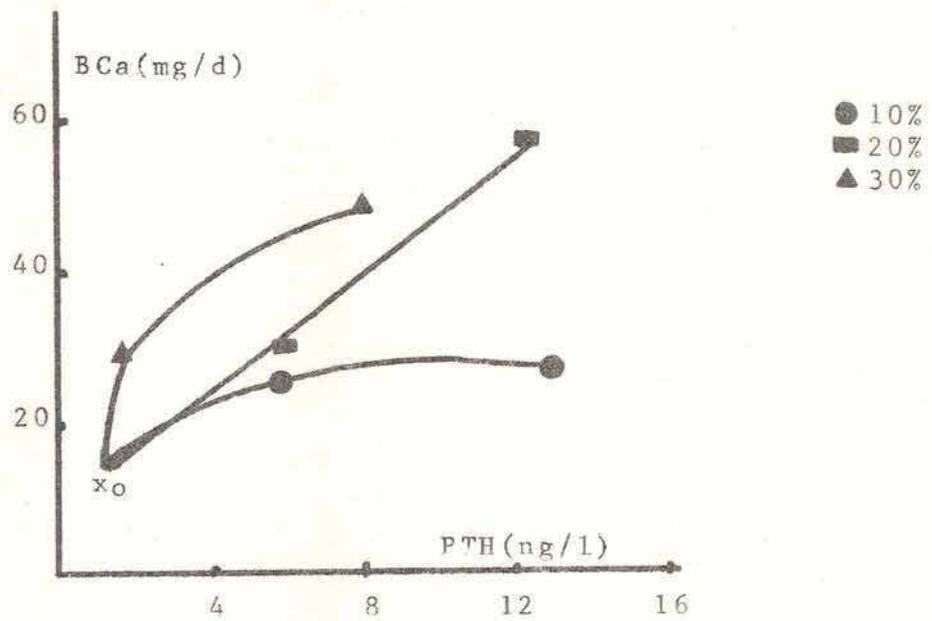


Figura 21

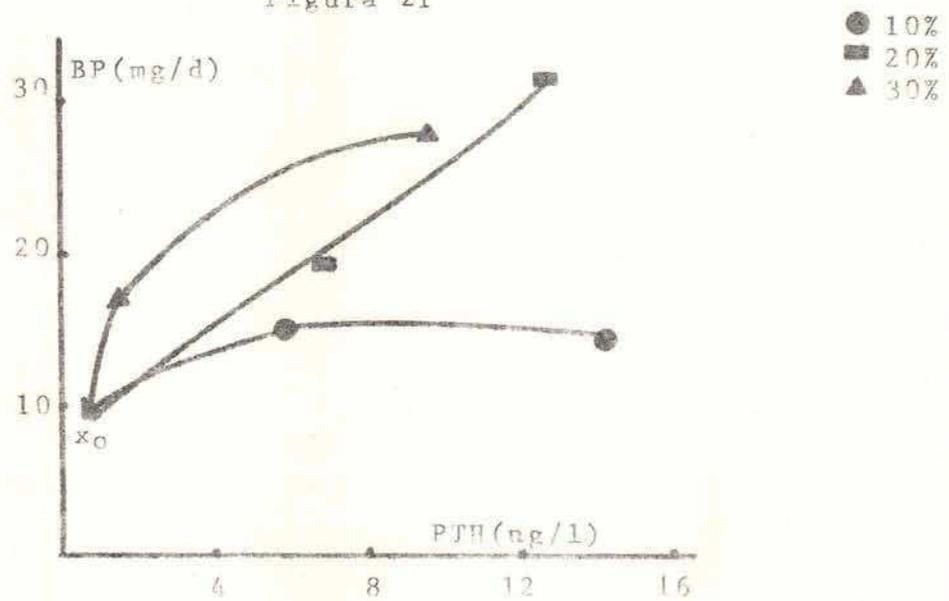
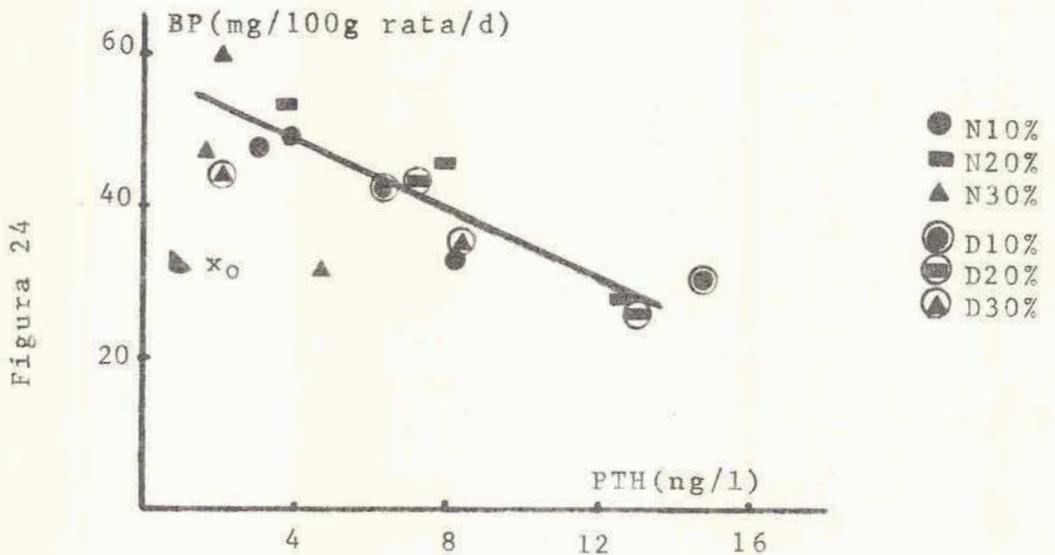
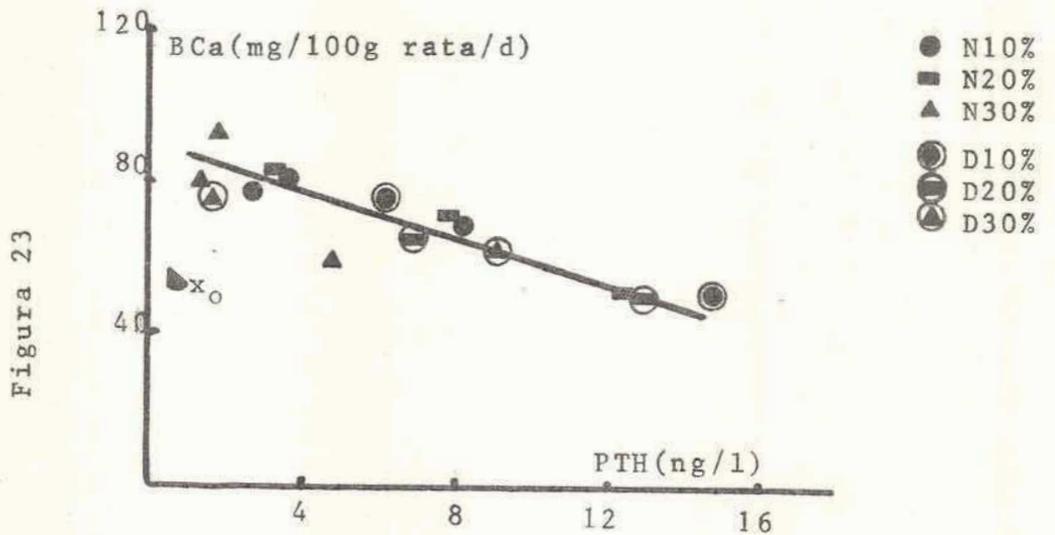


Figura 22

5.2 BALANCES DE CALCIO Y FOSFORO EN RELACION A LOS NIVELES DE PARATOHORMONA:

Tanto el balance de Ca como el de Fósforo, cuando fueron expresados en mg/100 g de rata/día, disminuyeron con el aumento en los niveles de PTH, expresados en ng/l, sin diferencias significativas debidas a la dieta experimental asignada o al estado nutricional previo del grupo estudiado (Figuras 23-24).



## 6.- CALCIO ABSORBIDO EN FUNCION DE LA VITAMINA D INGERIDA:

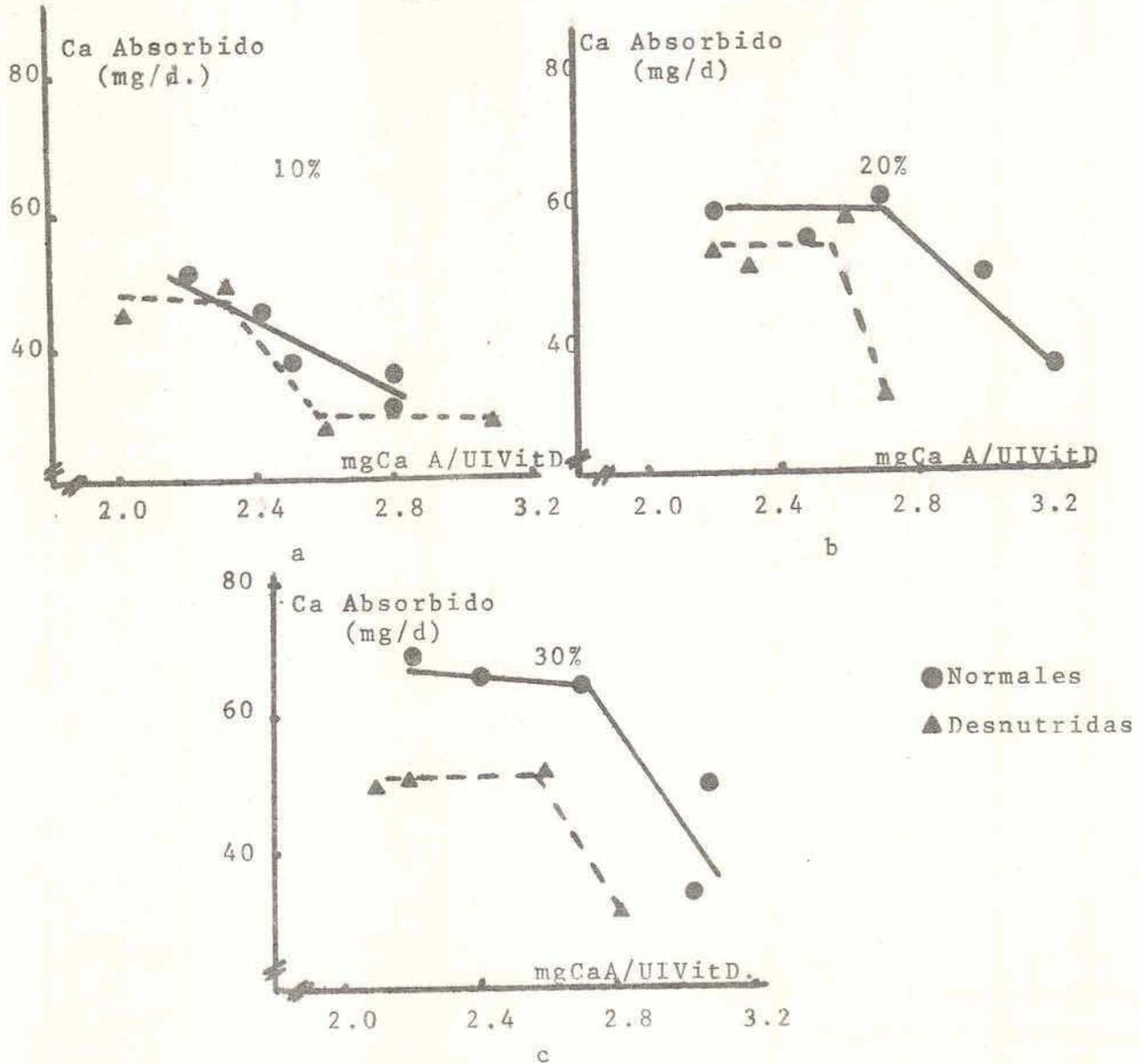
En la tabla 11 se muestran las ingestas de Vitamina D en UI/día, así como el Ca absorbido en mg/día para cada grupo experimental estudiado; para descartar las variaciones en la ingesta se calculó además el valor de la eficiencia de la absorción de Ca, expresada como mg Ca absorbido/UI de Vitamina D ingerida.

Para ambos estados nutricionales, se observó un aumento del Ca absorbido en función de la Vitamina D ingerida; pero, mientras que los animales alimentados con la dieta al 10% de proteínas no presentaron diferencias significativas entre normales y desnutridos, los animales alimentados con 20% y 30% de proteínas sí las mostraron. Es de destacar que, las diferencias entre ambos estados nutricionales se hicieron mayores al aumentar la concentración proteica de la dieta utilizada. Para las de 20% y 30% se observó que, a un mismo nivel de Vitamina D ingerida, las desnutridas presentaron un menor nivel de Ca absorbido pese a que la relación entre el Ca y la Vitamina D de las dietas era constante (tabla 3).

Cuando lo que se graficó fue el Ca absorbido en función de la eficiencia en la absorción, nuevamente se observó que los animales alimentados con 10% de proteínas no presentaron diferencias significativas en función del estado nutricional previo, mientras que los animales alimentados con 20% y 30% de proteínas sí lo hicieron y como en el caso mencionado anteriormente, para un mismo nivel de eficiencia en la absorción, los animales desnutridos presentaron niveles de Ca absorbido menor a sus pares normales, siendo estas diferencias mayores para la dieta conteniendo 30% de proteínas (Figuras 25 a, b y c).

En general, la eficiencia, expresada como Ca absorbido/UI de Vitamina D ingerida, no mostró cambios significativos debido a la concentración proteica de la dieta, ni al estado nutricional previo.

Figuras 25



7.- ESTUDIO DE LOS FEMURES:

En la tabla 12-14 figuran el peso, longitud, diámetro medio, contenido total de cenizas y materia orgánica, porcentaje de cenizas y la relación entre el contenido mineral y materia orgánica (M/O) del fémur derecho correspondiente, tanto a los animales normales como a los desnutridos, alimentados con las tres dietas experimentales.

7.1 PESO PROMEDIO:

Para todos los grupos estudiados, el peso promedio

T A B L A 12

Edad Días	% de Prot.	Relac. Ca/ Prot.	Peso del Fémur mg.		Longitud del Fémur cm.		Diámetro medio del Fémur mm.	
			N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	68.7± 3.0	47.3±2.0*	1.77±0.04	1.60±0.02*	234.6±5.7	212.0±2.0*
"	20	0.03	73.7± 3.3	47.3±2.0*	1.83±0.06	1.60±0.02*	238.3±8.7	212.0±2.0*
"	30	0.02	63.5± 1.8	47.3±2.0*	1.74±0.05	1.60±0.02*	233.0±3.5	212.0±2.0*
30 a 35	10	0.06	85.9±10.5	62.1± 1.5	1.92±0.09	1.75±0.03	228.8±7.7	216.2± 5.4
"	20	0.03	111.7± 6.0	89.2± 7.7	2.15±0.04	1.96±0.05	285.0±8.3	259.5±11.8
"	30	0.02	83.1± 3.8	58.9± 3.3	1.85±0.02	1.70±0.04	258.0±5.8	233.2± 5.1
45 a 50	10	0.06	101.7± 9.9	80.6± 8.2	2.05±0.08	1.82±0.09	250.2±9.5	221.3±10.0
"	20	0.03	189.4± 9.8	198.0±12.1	2.61±0.06	2.63±0.06	306.5±5.3	307.0± 7.2
"	30	0.02	178.4± 8.2	125.4± 9.5	2.48±0.04	2.28±0.03	298.5±6.6	272.2± 4.5
60 a 65	10	0.06	180.3±15.7	187.5±15.8	2.65±0.10	2.48±0.07	289.2±11.0	293.6±19.8
"	20	0.03	254.0±13.5	228.1± 7.1	2.83±0.07	2.83±0.04	320.3±9.4	311.3± 7.4
"	30	0.02	297.9±22.0	264.4±11.7	2.96±0.07	2.91±0.05	352.7±11.3	324.3± 7.2
90 a 95	10	0.06	218.8±15.9	218.1±10.2	2.74±0.07	2.85±0.10	298.0±12.7	312.4±14.4
"	20	0.03	403.7±20.6	359.6±23.1	3.33±0.08	3.17±0.05	364.7±14.9	348.0±13.1
"	30	0.02	414.0±13.8	309.6±19.1	3.29±0.04	3.01±0.05	362.6±11.6	331.0± 5.2

\* Corresponden a los datos de los animales alimentados con la dieta libre de proteínas  
Los valores se expresan como  $\bar{X} \pm$  D.S.

T A B L A 13

Edad Días	% de Relac. Ca/ Prot. Prot.		Cenizas Totales mg.		Porcentaje de Ceni- zas.		Matríz Orgánica mg.		Relación Mineral a Ma- triz Orgánica	
			N	D	N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	33.2±1.5	21.8±0.4*	45.0±1.5	46.1±0.5*	39.1±0.9	25.5±0.4*	0.82±0.05	0.85±0.02*
"	20	0.03	34.1±1.2	21.8±0.4*	46.7±1.2	46.1±0.5*	38.6±0.9	25.5±0.4*	0.88±0.05	0.85±0.02*
"	30	0.02	28.1±0.6	21.8±0.4*	44.3±0.9	46.1±0.5*	35.4±0.3	25.5±0.4*	0.80±0.03	0.85±0.02*
30 a 35	10	0.06	45.1±4.0	30.6±0.8	52.9±1.3	49.2±1.4	41.9±1.9	31.8±1.6	1.10±0.04	0.98±0.08
"	20	0.03	55.5±2.0	43.3±1.5	49.7±0.7	48.7±1.4	54.6±1.1	45.8±1.9	1.00±0.00	0.95±0.06
"	30	0.02	40.3±1.1	25.7±1.0	48.5±0.6	43.7±1.1	42.8±1.0	33.2±0.9	0.93±0.02	0.78±0.04
45 a 50	10	0.06	50.1±3.9	32.7±3.0	49.3±1.2	45.0±1.6	51.3±2.1	39.0±2.8	0.96±0.05	0.84±0.05
"	20	0.03	104.4±3.0	107.7±2.1	55.1±0.5	54.4±0.3	89.2±4.2	88.3±4.1	1.23±0.03	1.20±0.00
"	30	0.02	93.5±3.0	62.4±2.2	52.4±0.5	49.8±0.7	84.9±1.8	63.0±1.0	1.08±0.03	0.98±0.03
60 a 65	10	0.06	101.7±5.0	92.4±4.3	56.4±0.4	58.3±0.4	78.6±3.1	95.1±3.0	1.22±0.04	1.26±0.02
"	20	0.03	145.8±4.3	129.3±1.3	57.4±0.4	56.7±1.1	100.2±6.2	96.8±5.5	1.35±0.02	1.32±0.06
"	30	0.02	173.7±4.2	154.5±3.1	58.3±0.4	58.4±0.4	124.2±4.3	110.1±1.5	1.42±0.02	1.42±0.03
90 a 95	10	0.06	127.8±5.5	132.6±4.1	58.4±1.1	60.8±0.7	91.4±6.2	91.6±6.0	1.43±0.07	1.58±0.05
"	20	0.03	256.8±5.6	228.7±6.0	63.6±0.3	63.6±0.7	145.4±9.9	128.3±8.4	1.76±0.02	1.73±0.05
"	30	0.02	257.5±4.6	187.3±4.2	62.2±0.4	60.5±0.5	156.5±1.4	122.3±4.0	1.64±0.02	1.55±0.03

\* Datos correspondientes a los animales alimentados con la dieta libre de proteínas. Los valores están expresados como  $\bar{x} \pm$  D.S.

Edad _Días	% de Prot.	Relac. Ca/ Prot.	Contenido Total de Ca en mg.		Concentración de Ca mg Ca/g de tejido		Relación Ca/Fósforo	
			N	D	N	D	N	D
21 a 26	10	0.06	5.9±0.3	4.0±0.2*	80.3±5.9	84.7±4.1*	1.03±0.04	1.05±0.04*
"	20	0.03	5.9±0.3	4.0±0.2*	80.0±2.2	84.7±4.1*	1.08±0.02	1.05±0.04*
"	30	0.02	5.2±0.2	4.0±0.2*	81.7±3.4	84.7±4.1*	0.87±0.04	1.05±0.04*
30 a 35	10	0.06	8.4±1.0	5.4±0.1	97.8±4.0	87.2±4.1	1.05±0.08	0.98±0.06
"	20	0.03	10.6±0.6	8.9±0.8	94.7±3.2	99.7±5.8	1.02±0.03	0.99±0.04
"	30	0.02	7.7±0.4	5.1±0.3	92.7±4.8	86.5±6.4	1.01±0.03	0.88±0.03
45 a 50	10	0.06	10.2±0.9	6.2±0.8	100.2±4.2	86.0±5.8	1.06±0.03	1.09±0.07
"	20	0.03	18.2±0.9	21.6±1.2	96.0±4.2	109.0±5.8	1.04±0.01	1.07±0.02
"	30	0.02	18.5±0.8	12.2±0.9	103.7±4.0	97.2±5.4	0.97±0.05	0.95±0.05
60 a 65	10	0.06	19.9±1.6	17.6±1.0	110.3±7.5	93.6±9.6	1.13±0.02	1.12±0.04
"	20	0.03	24.5±1.0	25.2±0.7	96.3±5.0	110.7±3.8	1.02±0.02	1.05±0.02
"	30	0.02	39.3±2.2	29.0±1.2	131.8±5.6	109.5±3.0	1.17±0.04	0.98±0.02
90 a 95	10	0.06	28.7±1.6	27.4±1.0	131.2±5.3	125.7±5.7	1.10±0.03	1.07±0.04
"	20	0.03	50.7±2.1	44.3±2.3	125.7±5.1	123.3±3.7	1.21±0.05	1.15±0.03
"	30	0.02	52.2±1.4	42.7±1.9	136.0±6.4	137.8±6.3	1.25±0.05	1.07±0.08

\* Corresponden a los animales alimentados con dieta libre de proteínas. Los valores se expresaron como  $\bar{y} \pm D.S.$

del fémur aumentó con la edad.

Cuando se estudiaron comparativamente los animales normales se observó que, a los 26 días de edad los animales N30% presentaban los pesos promedios menores; a los 35 días, se igualaron los pesos correspondientes a los animales N10% y N30%, para posteriormente, a los 50 días, igualarse los correspondientes a los animales N20% y N30%. De allí en adelante, los animales N10% presentaron el menor peso promedio. En el estado adulto, se observó que los pesos promedios de los animales N20% y N30% no presentaron diferencias significativas, siendo significativamente menores, como ya se mencionó, los pesos correspondientes a los animales N10%. Cuando se estudió comparativamente a los animales desnutridos, se observó que este grupo siguió un comportamiento similar al de los animales normales.

Al comparar, para una misma dieta experimental, los dos estados nutricionales estudiados, se observó que los animales desnutridos presentaron pesos promedios significativamente menores a sus pares normales hasta diferentes edades según la dieta experimental asignada; los D30% respecto de sus pares N30% a lo largo de toda la experiencia, los animales alimentados con 10% de proteínas solamente durante la etapa de crecimiento (1<sup>o</sup> y 2<sup>o</sup> período), mientras que los animales D20% sólo lo presentaron hasta los 45 días. Se debe destacar además, que los animales alimentados con 10% de caseína fueron los animales que presentaron menores cambios con la edad.

## 7.2 LONGITUD:

Al igual que el peso promedio, la longitud aumentó con la edad, observándose durante la etapa de crecimiento que los animales N20% presentaron las mayores longitudes. Durante la edad adulta no existieron diferencias significativas entre los animales N20% y N30%. Para el grupo de

animales desnutridos, tanto durante el crecimiento como en la edad adulta, los animales D20% alcanzaron las mayores longitudes. Es de notar que, tanto los animales N10% como los D10%, siempre presentaron longitudes significativamente menores que sus pares de 20% o 30% de proteínas.

Comparando los dos estados nutricionales para una misma dieta experimental, los animales D30% siempre fueron significativamente menores que sus pares N30%; los animales D10% lo fueron solamente durante la etapa de crecimiento y los animales D20% sólo durante la primera semana de recuperación.

### 7.3 DIAMETRO MEDIO:

Al comparar el efecto de las tres dietas experimentales entre sí, se observó que, durante la etapa de crecimiento, los animales normales no presentaron diferencias significativas entre sí. En cuanto al grupo de animales desnutridos, los D20% mostraron un diámetro significativamente mayor que los otros dos grupos experimentales.

Tampoco se observaron diferencias significativas al comparar, para una misma dieta experimental, los animales normales y desnutridos entre sí.

### 7.4 PORCENTAJE DE CENIZAS:

El porcentaje de cenizas aumentó en función de la edad.

Cuando se estudiaron comparativamente los animales normales, se observó que, durante el período de crecimiento, los animales N10% presentaban el menor porcentaje de cenizas; mientras que no se observaron diferencias significativas entre los tres grupos experimentales a la edad adulta. Los animales desnutridos siguieron un comportamiento similar a los animales normales.

Al comparar animales normales y desnutridos entre sí,

para una misma dieta experimental, sólo los animales D10% presentaron un porcentaje de cenizas menor que sus pares normales.

#### 7.5 CANTIDAD TOTAL DE CENIZAS:

Al igual que el porcentaje de cenizas, la cantidad total de cenizas, expresada en mg, aumentó en función de la edad.

Cuando se estudiaron comparativamente las tres dietas experimentales para un mismo estado nutricional se observó que, durante el período de crecimiento, los animales N20% presentaron el mayor contenido de cenizas. En la edad adulta, los animales N20% y N30% no presentaron diferencias significativas, mientras que los animales N10%, para todas las edades, siempre tuvieron un menor contenido de cenizas. El mismo comportamiento se observó para los animales desnutridos.

Cuando para una misma dieta experimental se compararon los dos estados nutricionales estudiados se observó que, los animales N10% tuvieron mayor cantidad de cenizas que sus pares D10%, durante el período de crecimiento y que dicha diferencia no se observó en la edad adulta. Por otro lado, esas diferencias significativas entre animales normales y desnutridos se mantuvieron durante toda la experiencia para aquellos que fueron alimentados con las dietas conteniendo 20% o 30% de proteínas.

#### 7.6 CANTIDAD DE MATRIZ ORGANICA:

La cantidad total de matriz orgánica se midió como la diferencia entre el peso total del fémur desengrasado y seco y la cantidad total de cenizas. Se observó para las tres dietas experimentales que, tanto para los animales normales como para los desnutridos, su contenido aumentó en función de la edad.

Cuando se comparó, para una misma dieta experimental,

Los dos estados nutricionales estudiados, se vió que durante el crecimiento, los animales normales de cualquiera de las dietas estudiadas, alcanzaron mayor cantidad de matriz orgánica que sus pares desnutridos. En la edad adulta, si bien no existieron diferencias significativas para los animales alimentados con 10% de proteínas, los animales N20% y N30% en cambio, presentaron mayor contenido de matriz orgánica que sus pares desnutridos.

Estudiando comparativamente, para un mismo estado nutricional, las tres dietas experimentales entre sí se observó que no existieron diferencias significativas entre los animales normales hasta los 28 días de edad; a los 35 días, los animales N20% presentaron el mayor contenido de matriz orgánica y en la edad adulta, fueron los animales N30% los que presentaron la mayor cantidad de la misma. En el grupo de animales desnutridos se observó que, si bien durante el crecimiento los animales D20% presentaron un contenido de matriz orgánica significativamente mayor a los otros dos grupos experimentales, en la edad adulta, en cambio, no existieron diferencias significativas entre D20% y D30%. Para todas las edades, los animales D10% fueron los que presentaron el menor contenido de matriz orgánica.

#### 7.7 RELACION ENTRE EL CONTENIDO MINERAL Y DE MATERIA ORGANICA:

Como todos los otros parámetros estudiados, la relación mineral a materia orgánica aumentó con la edad.

Cuando se compararon animales normales y desnutridos entre sí para una misma dieta experimental, se observó que no existió diferencia significativa entre ellos.

Al comparar las distintas dietas experimentales, para un mismo estado nutricional se observó que los animales normales no presentaron diferencias significativas durante la etapa de crecimiento; en la edad adulta, los animales N10% presentaron la relación menor; los animales N20% y N30% no presentaron diferencias significativas

entre ellos. Para los animales desnutridos en cambio, los D20% presentaron la mayor relación, mientras que los animales D10% y D30% no presentaron diferencias significativas entre ellos.

#### 8.- ESTUDIO DE LOS DISTINTOS PARAMETROS DE LOS FEMURES EN FUNCION DEL BALANCE TOTAL DE CALCIO:

Todos los parámetros de medida estudiados en los fémures aumentaron como una función del aumento en el balance de Ca, expresado en mg/día.

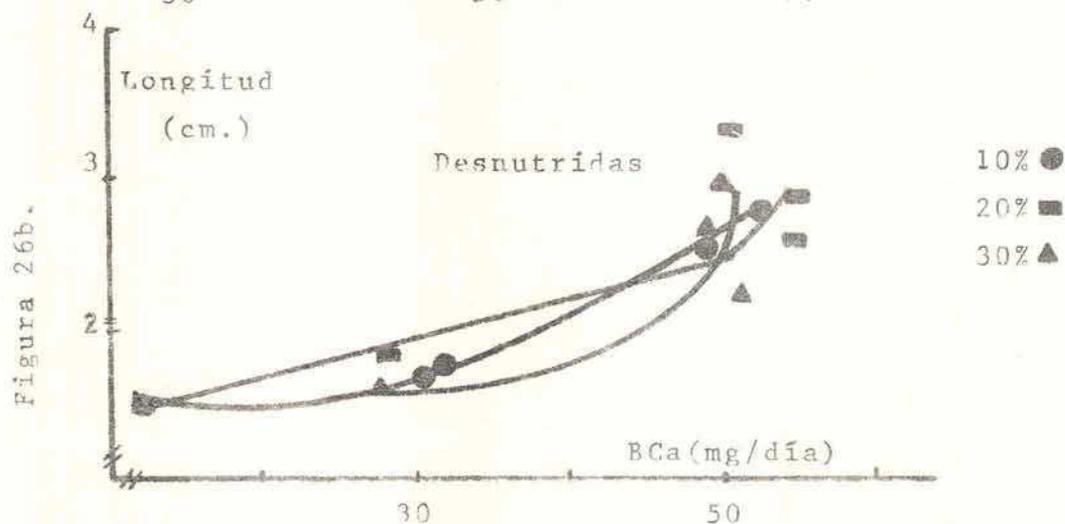
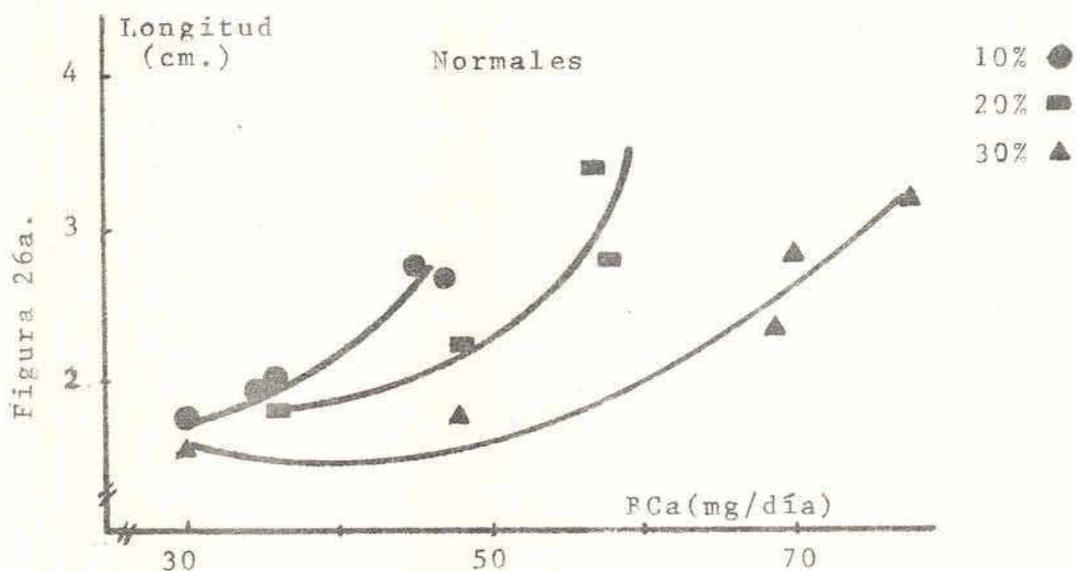
Es importante destacar, que al evaluar, durante el crecimiento, las distintas mediciones en los fémures en función del balance de Ca se observó que, para los animales desnutridos, los puntos correspondientes a una misma edad respecto de sus pares normales, estaban desplazados en el sentido de menor medición a un mismo nivel de balance. Este fenómeno se observó en los animales D10% hasta los 65 días de edad, en los D20% hasta los 35 días y en los D30% hasta los 50 días de vida.

Como patrón general de comportamiento para los distintos parámetros se observó que, para una misma dieta, comparando los dos estados nutricionales estudiados, las diferencias entre normales y desnutridos aumentaron al aumentar la concentración proteica de la dieta utilizada: si bien los animales alimentados con 10% de proteínas no presentaron diferencias significativas, en aquellos alimentados con 20% de proteínas esas diferencias se hacen notables, aumentando aún más en los animales alimentados con 30% de proteínas.

##### 8.1 LONGITUD:

Cuando se comparan para una misma dieta experimental, los dos estados nutricionales estudiados, los cambios en la longitud con el aumento en el balance de Ca se ajustó al patrón general.

Cuando se compararon las distintas dietas entre sí, para un mismo estado nutricional se observó que, durante el crecimiento, para los animales desnutridos los D10% presentaron los menores niveles de balance de Ca y menores longitudes; en el estado adulto, los animales D10% a un mismo valor de balance de Ca alcanzaron menores longitudes que los animales D20% y D30%. El mismo comportamiento se observó para los animales normales. Es de destacar que, las mayores longitudes con el menor valor de BCa fueron alcanzados, en el estado adulto, por los animales D20% (Figuras 26 a y b).



## 8.2 DIAMETRO MEDIO:

Cuando se comparó para una misma dieta los dos estados nutricionales estudiados, el diámetro medio se ajustó al patrón general.

Cuando se analizó comparativamente las tres dietas experimentales, para un mismo estado nutricional se observó que, durante el crecimiento, los animales D10% presentaron los menores BCa y menores diámetros, mientras que dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas en el estado adulto. Entre los animales normales, los animales N10% presentaron, durante toda la experiencia, BCa y diámetros medios significativamente menores que los animales correspondientes a N20% y N30%.

## 8.3 MATRIZ ORGANICA:

Cuando se comparó en una misma dieta los dos estados nutricionales estudiados se verificó que su comportamiento se ajustaba al patrón general.

Cuando se analizó el comportamiento, para un mismo estado nutricional, de los tres grupos estudiados, se vió que entre normales, los animales N10% eran las que presentaban menores BCa y contenido de matriz orgánica; entre las desnutridas, para un mismo valor de BCa, los animales D10% presentaban menor contenido de matriz orgánica que sus pares D20% y D30%.

## 8.4 CALCIO TOTAL EN FEMUR:

Cuando se comparó para una misma dieta experimental, los dos estados nutricionales, se verificó que el contenido total de Ca en fémur se ajustó al patrón general. Además, para todas las dietas, pueden detectarse dos zonas: una correspondiente a las etapas 1<sup>o</sup> y 2<sup>o</sup> del estudio (de adaptación y de crecimiento), donde la cantidad total de Ca en mg varía muy poco con el aumento en el BCa y la otra zona, correspondiente a la etapa 3<sup>o</sup>, en que se producen

grandes saltos en el contenido de Ca con poca variación en el BCa. La diferencia entre ambas zonas estaría dada por la VGP; correspondiendo la primera zona a las VGP elevadas y la otra zona a VGP tendientes a cero.

Cuando se comparó las tres dietas estudiadas para un mismo estado nutricional, se observó que durante el crecimiento, entre los animales desnutridos, los D10% fueron los que presentaban menor contenido de Ca en fémur, así como BCa; en el estado adulto, si bien no existieron diferencias significativas en los niveles de BCa, los animales D10% presentaban nuevamente los menores contenidos de Ca. Para los animales normales, los N10% se comportaron de la misma manera que sus pares D10%, ya que presentaban al mismo tiempo los menores contenidos de Ca y de BCa (Figuras 27a y b).

Figura 27 b.

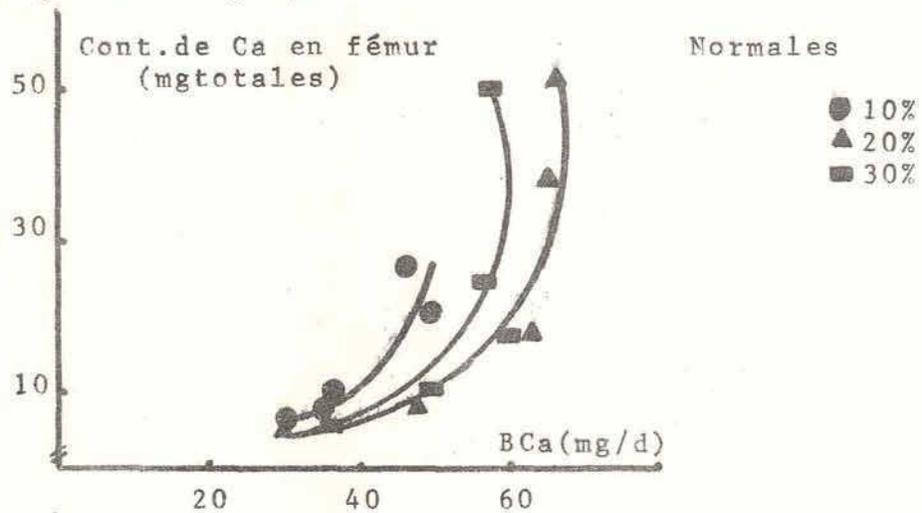
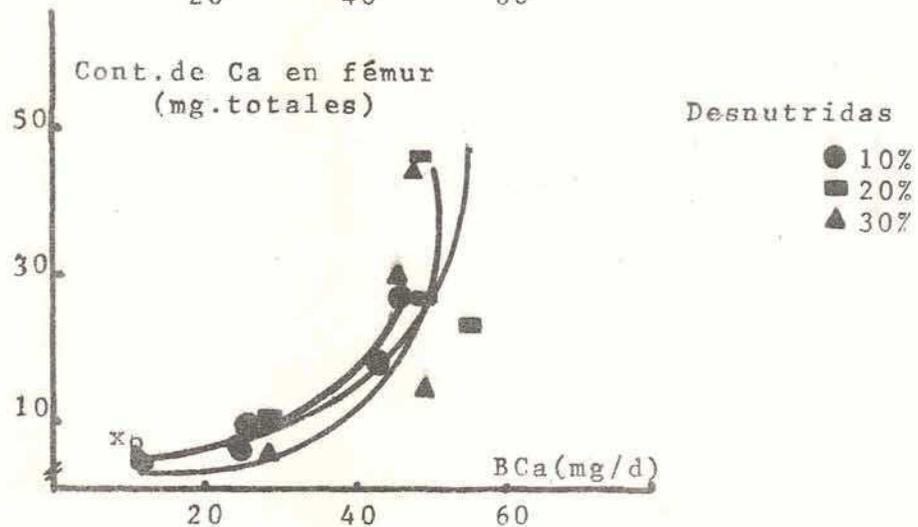


Figura 27 a.



#### 8.5 CANTIDAD, PORCENTAJE DE CENIZAS Y RELACION CONTENIDO MINERAL A MATERIA ORGANICA:

Todos ellos siguieron el mismo comportamiento que el que fuera descrito en el ítem 8.4.

#### 8.6 CALCIO EN FEMUR POR GRAMO DE TEJIDO:

Cuando el contenido de Ca en fémur se expresó como mg de Ca/g de tejido, se observó al comparar en una misma dieta los dos estados nutricionales observados que, durante los dos primeros períodos, existió muy poca variación en dicho contenido, a pesar de grandes variaciones en el BCa. En el 3º período, se produjo un aumento en el contenido de Ca sin variaciones en el BCa. Este comportamiento se observó tanto para animales normales como para desnutridos. En el grupo de animales alimentados con 10% de proteínas, no existieron diferencias significativas entre animales normales y desnutridos; en los del grupo al 30% de proteínas, los N30% se apartaron de sus pares D30% sólo en la edad adulta, mientras que los N20% y D20% presentaron diferencias significativas a lo largo de todo el período experimental.

Al comparar para un mismo estado nutricional los tres grupos estudiados se observó que, durante el crecimiento así como durante el estado adulto, los animales D10% y D30% presentaron los mismos contenidos de Ca/g de tejido para BCa similares; los animales D20%, en cambio, para los mismos valores de BCa presentaron mayores contenidos de Ca/g de tejido. En cuanto a los animales normales, los N20% y N30% no presentaron diferencias significativas durante toda la experiencia, mientras que los N10% alcanzaron los mismos contenidos de Ca/g de tejido con menores valores de BCa (Figuras 28 a, b y c.).

#### 9.- ESTUDIO DE LOS DISTINTOS PARAMETROS EN FUNCION DEL BALANCE NITROGENADO:

En las tablas 12 y 13, de acuerdo al estado nutricional, figuran

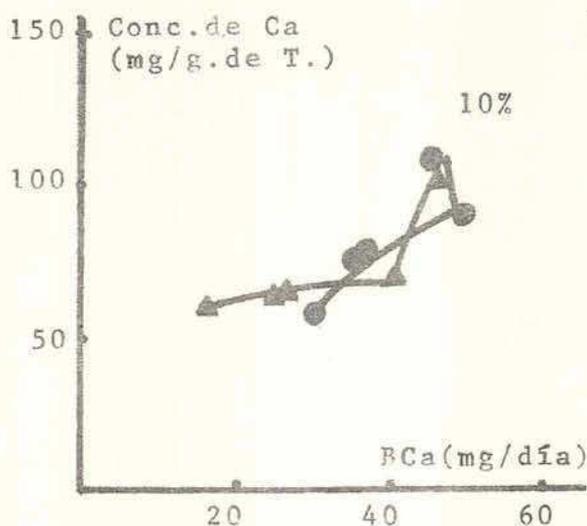


Figura 28a.

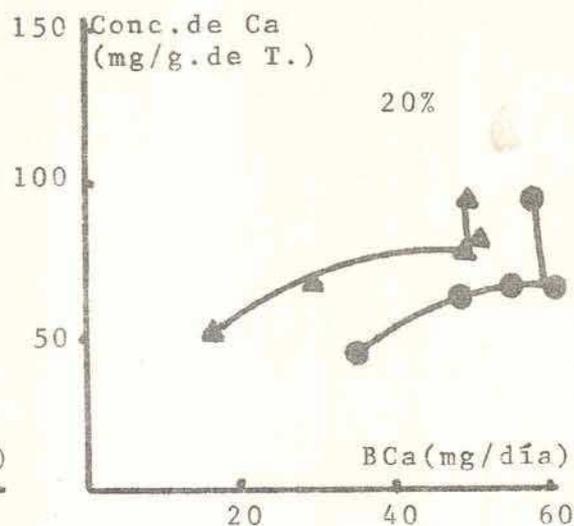


Figura 28b.

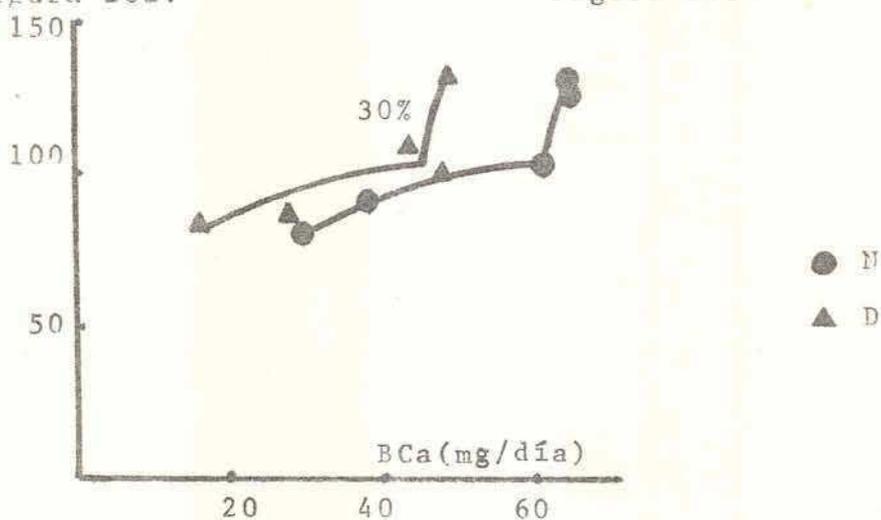


Figura 28c.

los distintos valores de los parámetros correspondientes a los tres grupos experimentales en función del balance nitrogenado, expresado como mg/día.

Se observó al comparar las tres dietas experimentales entre sí para un mismo estado nutricional que, tanto para animales normales como para animales desnutridos, el grupo alimentado con 10% de proteínas mostró el menor valor de balance nitrogenado y conjuntamente el menor peso promedio, longitud, contenido de cenizas, materia orgánica, porcentaje de cenizas y relación mineral a materia orgánica. En cuanto al diámetro medio, durante el crecimiento,

se encontró un comportamiento similar al mencionado anteriormente, sin embargo a los 90 días de edad, el diámetro medio alcanzó valores que no fueron significativamente distintos para las tres dietas experimentales estudiadas.

Cuando para una misma dieta experimental se compararon los dos estados nutricionales se observó que, durante la etapa de crecimiento, tanto los valores de balance nitrogenado como el de los distintos parámetros estudiados correspondientes al de los animales N10% fueron significativamente mayores que para sus pares D10%; las diferencias dejaron de ser significativas a partir del 3º período correspondiente a la etapa de crecimiento lento. En cuanto a los animales N20% y D20%, hasta los 50 días de edad, los animales D20% mostraron valores en los parámetros estudiados, para un mismo valor de balance nitrogenado, significativamente menores que sus pares normales; a partir de dicha edad, dejaron de observarse diferencias significativas. Para los animales alimentados con 30% de proteínas, los D30%, durante toda la experiencia, mostraron valores en los parámetros estudiados significativamente menores a sus pares N30%, pese a que normales y desnutridos habían logrado, a los 90 días de edad, el mismo nivel en el balance nitrogenado (Figuras 29 a y b).

#### 10.- ESTUDIO DURANTE EL CRECIMIENTO, DEL CONTENIDO DE CALCIO EN FEMUR EN FUNCION DE LOS NIVELES DE PARATHORMONA

Para analizar este punto, es importante recordar que para todas las dietas experimentales estudiadas y estados nutricionales, los niveles de PTH se encontraron dentro de rangos fisiológicos normales.

##### 10.1 CALCIO TOTAL EN FEMUR:

Cuando el Ca total en fémur se expresó en mg totales, se observó un comportamiento distinto según la dieta y el estado nutricional estudiado, tal como puede observarse en las figuras 30 a, b y c).

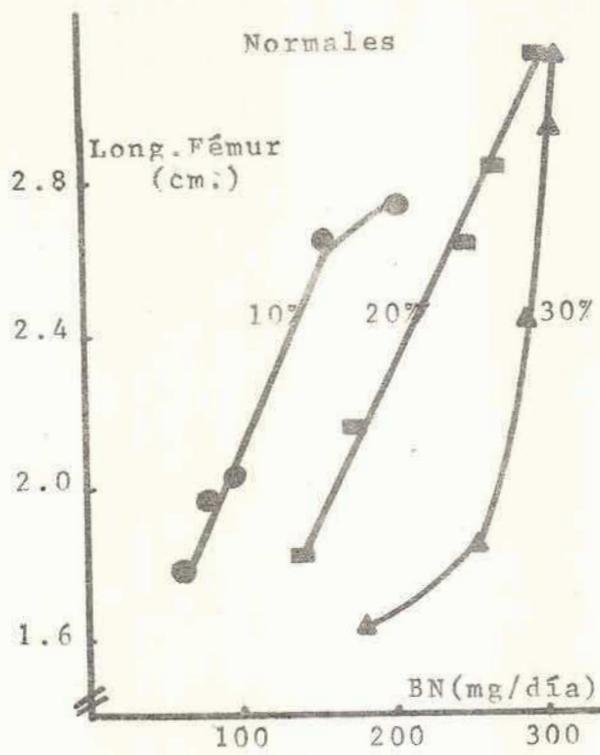


Figura 29 a

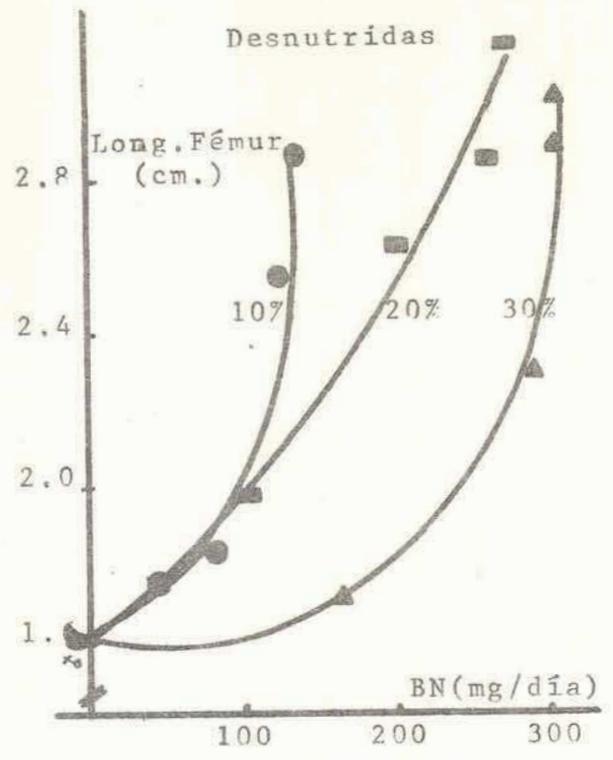
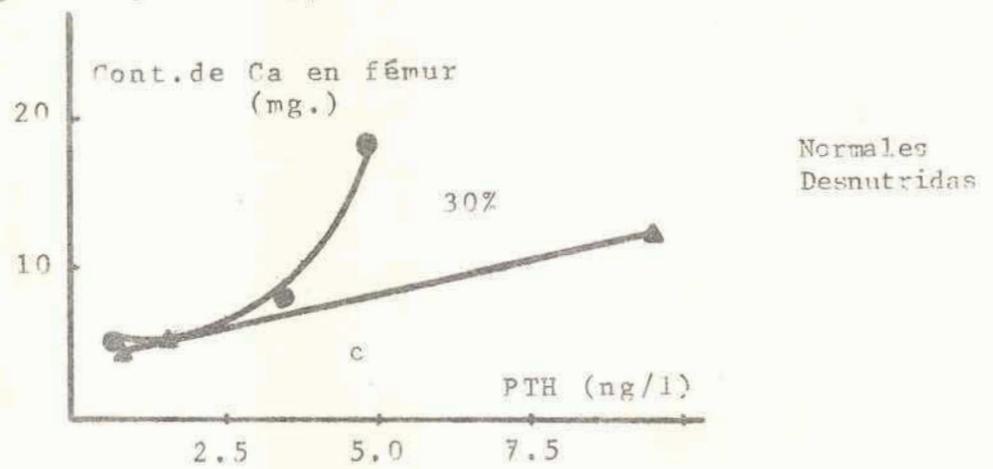
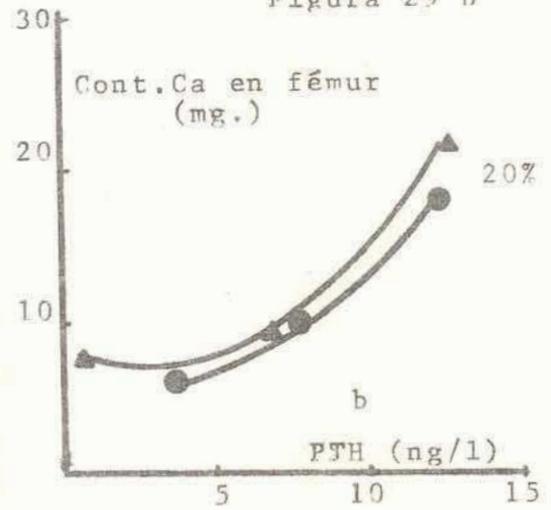
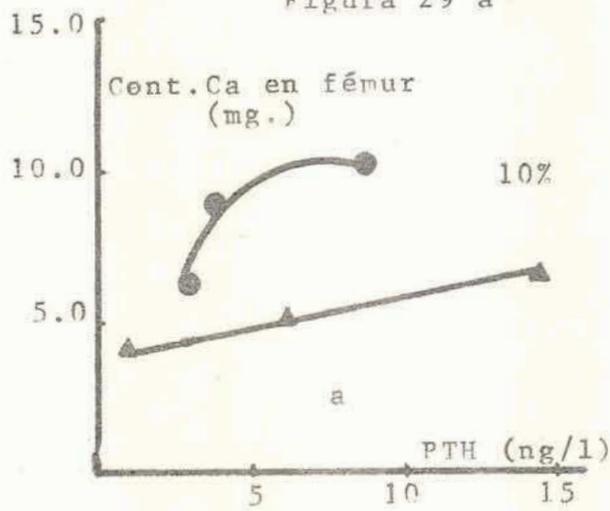


Figura 29 b



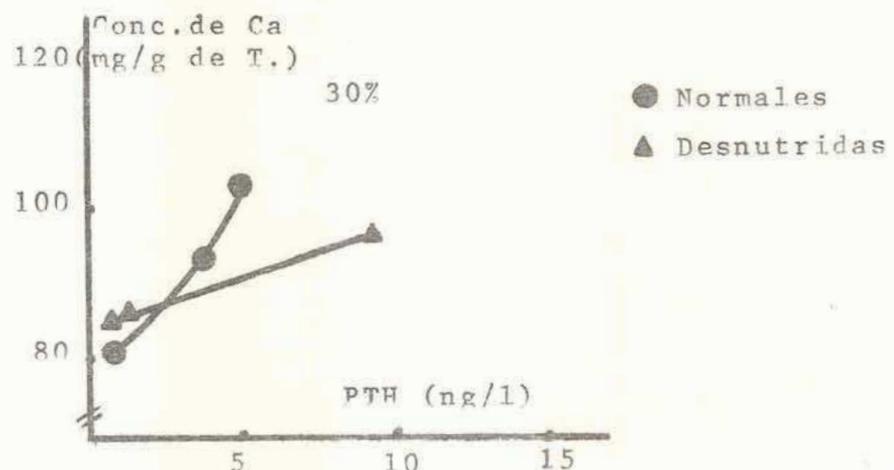
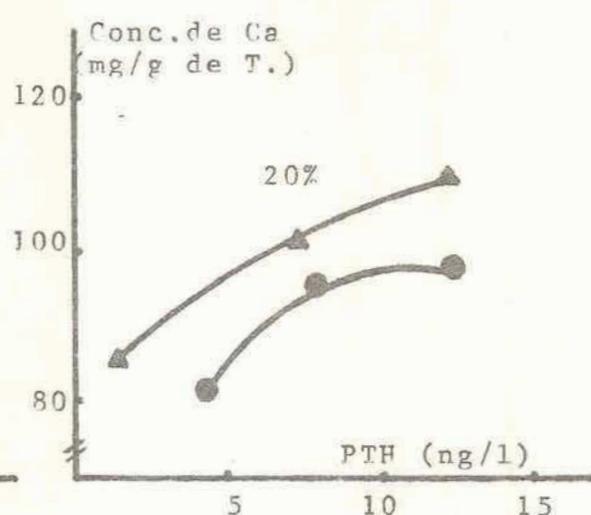
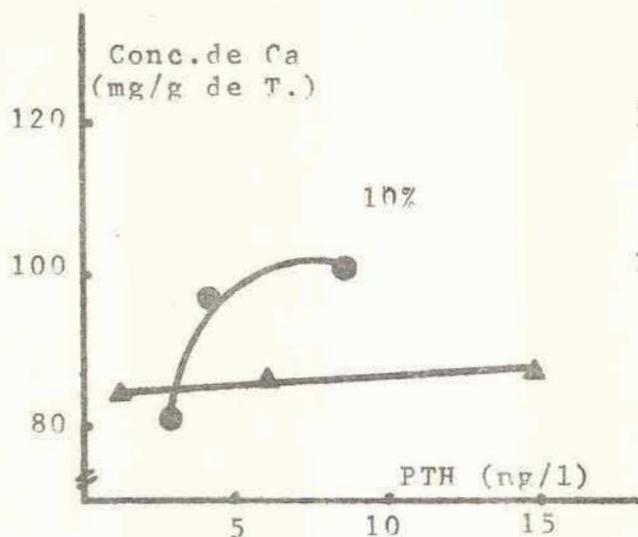
Figuras 30

Los animales N10% presentaron un aumento significativo del contenido de Ca en fémur, alcanzándose una meseta alrededor de los 10 mg de Ca, con poca variación en los niveles de PTH. Los animales D10% en cambio, mostraron muy poca variación en el contenido total de Ca en fémur, a pesar de los cambios producidos en los niveles de PTH. Los animales N20% y D20% no presentaron diferencias significativas entre ambos; los animales N30% mostraron un aumento en el contenido de Ca, con muy poca variación en los niveles de PTH, mientras que los animales D30% mostraron muy poca variación en el contenido de Ca con el aumento en los niveles de PTH.

Cuando se compararon los tres niveles proteicos experimentales para un mismo estado nutricional se observó que, entre los animales normales, los menores contenidos de Ca en función de los niveles de PTH lo presentaron los animales N10%, mientras que los animales N20% y N30% no mostraron diferencias significativas entre ellos, a pesar de que los niveles de PTH fueron significativamente menores en los animales N30%. Entre los animales desnutridos, nuevamente, los D10% presentaron el menor contenido de Ca y mayores niveles de PTH. Solo existió un aumento en el contenido de Ca con el aumento en los niveles de PTH en los animales D20%; los animales D30% siguieron el mismo comportamiento que los animales D10%, pero, a niveles de Ca en fémur significativamente menores y niveles de PTH significativamente mayores.

#### 10.2 CALCIO EN FEMUR POR GRAMO DE TEJIDO:

Cuando el nivel de Ca en fémur se expresó en mg de Ca/g de tejido, no se observaron diferencias significativas, ni debidas al estado nutricional ni a la dieta experimental asignada en función de los niveles de PTH crecientes, tal como puede observarse en las figuras 31 a, b y c.



Figuras 31

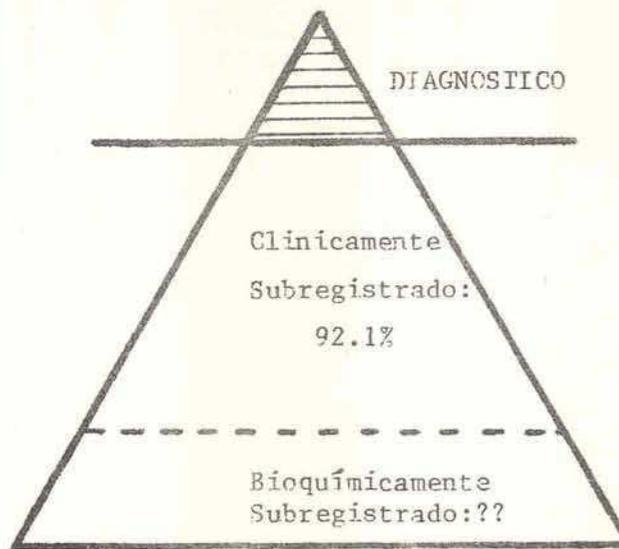
## D I S C U S I O N

### 1.- ALTERACIONES OSFAS PRODUCIDAS POP LA DESNUTRICION

#### 1.1 INTRODUCCION:

Los primeros años de vida son críticos para el desarrollo debido a que en ellos no se ha alcanzado aún la madurez de muchos órganos y tejidos. Durante esa etapa, los requerimientos de nutrientes, tanto en calidad como en cantidad, están condicionados por la velocidad de crecimiento y van disminuyendo hasta llegar a un valor mínimo en el adulto, donde, por haberse alcanzado la madurez definitiva sólo se requieren aquellas cantidades necesarias para el mantenimiento y renovación de los tejidos ya formados. Por dicho motivo las deficiencias nutricionales se evidencian rápidamente durante la niñez y sus consecuencias son más funestas cuanto más temprana sea la edad a la que se instale y cuanto más tiempo se tarde en repararla.

La malnutrición calórico-proteica es, sin duda, la deficiencia nutricional más ampliamente difundida, tanto en los países en vías de desarrollo como en las comunidades marginales de los países desarrollados (98,99). Este tipo de malnutrición se manifiesta como dos entidades extremas: una de ellas, conocida como MARASMO, resulta del déficit global de calorías y proteínas y, en consecuencia, se produce por la falta de alimentos. La otra deficiencia, llamada KWASHIORKOR, es la resultante del consumo de dietas que aportan baja cantidad de proteínas, las que además son de mala calidad, con aporte calórico más o menos adecuado. Entre estos dos casos extremos, cuya prevalencia real es muy escasa, existe un espectro continuo de situaciones intermedias que configuran lo que se ha dado en denominar "la parte escondida del iceberg de la desnutrición" y que se esquematiza en la siguiente figura:



Organización Panamericana de la Salud (OPS). Publicación Científica N° 262-Washington, 1973.

Figura 32

En nuestro país el tipo de malnutrición que prevalece es la deficiencia calórico-proteica global -cercana al marasmo nutricional (100)- la cual afecta a una gran cantidad de niños y que por su cronicidad es causa de la mayor parte de las muertes infantiles tardías, así como a la de niños en edad preescolar (101). Aquellos que sobreviven al proceso son niños pequeños para la edad cronológica y presentan retardo físico junto a una disminución de su capacidad intelectual (102,103).

Es un hecho conocido que entre las anomalías que son consecuencia de la malnutrición calórico-proteica, se presentan las que se producen a nivel del esqueleto. En niños malnutridos se encuentra inmadurez esquelética, retardo en el crecimiento de los huesos largos, así como deficiencia de hueso cortical, llegándose en algunos casos de malnutrición proteica severa a observarse distintos grados de raquitismo (104).

La deficiencia proteica tiene un efecto detrimental mayor sobre el esqueleto que la deficiencia calórica generalizada, observándose que en aquella existe mayor pérdida

ósea. Sin embargo, cualquiera sea el caso, la malnutrición está acompañada de una disminución de la masa ósea -conocida como Osteopenia- nombre que representa el espectro de desórdenes esqueléticos producidos como consecuencia del efecto supresor de la malnutrición sobre el recambio óseo. Se ha descrito que la Osteopenia asociada a desnutrición proteica transcurre sin cambios en el peso de los huesos, porcentaje de cenizas, concentración de Ca y P ni cambios en los niveles séricos de Ca. Todo ello indicaría que la pobre formación del hueso asociada a la desnutrición, no se debería a disturbios en la mineralización sino que sería de tipo osteoporótico, o sea, disminución de la masa del hueso normalmente mineralizado (105).

El efecto de la malnutrición calórico-proteica sobre el esqueleto difiere del producido por la deprivación de Ca: en este último caso, existe proliferación osteoide excesiva con una disminución en el porcentaje de cenizas, lo que sugiere la existencia de abundante matriz orgánica no mineralizada configurando un cuadro de tipo osteomalático. La disminución en el porcentaje de cenizas producida por la deficiencia de Ca se ve parcialmente normalizada por una disminución en la concentración proteica de la dieta; este hecho sugiere y apoya la hipótesis de que el efecto inhibitorio ante la falta de proteínas sería a nivel de la síntesis de la matriz orgánica constituyente de la matriz ósea (105,106).

Cuando se trabaja con modelos experimentales de malnutrición calórico-proteica, en animales de laboratorio, se observan fallas similares a las encontradas en los humanos; retardo en el crecimiento, rarefacción de los huesos largos y epífisis muy finas, así como supresión en el crecimiento longitudinal. También se observan alteraciones en el ancho relativo a la longitud del hueso debido a que la malnutrición calórico-proteica tiene efectos diferenciales sobre el crecimiento óseo aposicional y longitudinal; sobre este punto existe cierta evidencia de que el crecimiento longitudinal se relaciona con el peso corporal, mientras que el ancho se relaciona directamente

con la edad del animal, y en consecuencia, la desnutrición afectaría en mayor medida al primero de ellos (107).

En cambio, cuando los animales se los somete a una depleción proteica severa se produce retardo en el crecimiento, pero si la dieta contiene una relación Ca/Fósforo de 3:2, no se observan signos de mineralización deficiente. A pesar de la detención en el aumento del peso corporal, y aún a la pérdida del mismo, el crecimiento del hueso continúa aunque a una velocidad muy reducida. Estudios dinámicos confirman que en esta situación existe una disminución en el pool cálcico -que se ha atribuido a la concomitante disminución en la Albúmina sérica-, así como un reducido depósito de Ca en huesos; este último hecho sugiere la existencia de una interferencia en la síntesis de matriz orgánica de Colágeno que, algunos autores han postulado, se debería a la disminución en la hidroxilación de la Prolina (108). Esta disminución en la formación ósea da por resultado no sólo una disminución de la longitud sino también del tamaño del fémur y al igual que en la malnutrición calórico-proteica no se acompaña de alteraciones en el contenido mineral.

Por otro lado, debido a que no sólo se ha observado disminución en la velocidad de crecimiento aposicional sino también disminución en el número de sitios de resorción de las superficies periosteales, las menores superficies óseas encontradas en la desnutrición proteica no pueden asociarse a una excesiva resorción. Esta reducción en la actividad osteoclastica ha sido atribuida a una disminución generalizada de la actividad metabólica durante el período de deficiencia (109). Otros investigadores han confirmado que la depleción proteica durante 5 a 10 días no produce cambios en la concentración de Ca en los huesos; sin embargo, períodos de deficiencia proteica severa más prolongados llevan a desmineralización generalizada (110,111).

## 1.2 PERIODO INMEDIATO AL DESTETE, DE ADAPTACION A LA DIETA:

En las ratas de este estudio, sometidas desde el des

tete, por una semana, a una alimentación con dieta libre de proteínas, se han desarrollado las alteraciones enunciadas previamente por otros autores: retardo en el crecimiento, con pérdida aproximada de un 20% del peso corporal y disminución en la velocidad de formación del fémur tanto en tamaño como en longitud, diámetro medio y peso (tabla 12), pero no hemos observado cambios en el porcentaje de cenizas, relación mineral a matriz orgánica, concentración de Ca y P o relación Ca/P del fémur (tablas 13 y 14). Estos últimos parámetros son índice de la cristalinidad del mineral óseo y de su constancia se puede deducir que, si bien existe una disminución en la formación de la masa ósea, el proceso de mineralización ocurriría normalmente. Esta conclusión estaría limitada por el hecho importante de que, los análisis químicos de los huesos enteros indican la concentración media del mineral formado, antes del período experimental y durante el mismo, y en consecuencia, resultaría difícil evaluar los cambios ocurridos en la composición mineral sólo durante el período de deficiencia proteica (109).

Por otra parte, se ha comprobado que en este período no existió resorción aumentada debido a que los niveles de PTH en plasma estuvieron dentro de los límites normales para la edad.

De lo expuesto surge que la deficiencia proteica severa afectaría el desarrollo óseo; cabría preguntarse entonces si la situación inversa también puede afectarla. Para analizar esta hipótesis se compararon los resultados de los grupos experimentales que, durante el período posterior al destete, recibieron dietas con una concentración proteica de 10, 20 ó 30%.

Debemos primero destacar que en esa etapa de la vida de rápido desarrollo corporal los individuos presentan requerimientos proteicos que dependen de la especie. Para la rata de la cepa wistar se ha establecido que el nivel óptimo se encuentra entre un 16 y un 20% de proteína en la dieta. Esto, en alguna medida, se corroboró en el presente estudio puesto que los mayores pesos promedios y VCP se alcanzaron, durante este período, con la dieta que aportaba un 20% de proteínas. Paralelamente

te a los mayores pesos promedios, se observó una franca tendencia hacia las mayores longitudes y peso de los fémures. Por otra parte, los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales no mostraron cambios en el porcentaje de cenizas, relación entre el contenido mineral y de materia orgánica o en la concentración de Ca en el tejido (tablas 12 a 14); estos hallazgos, similares a los observados en los animales alimentados durante el mismo período con la dieta libre de proteínas, confirmarían que los cambios en el aporte proteico no afectan, al menos en este período, a la mineralización sino a la síntesis de la matriz orgánica.

Es importante destacar que los cambios en la concentración proteica de la dieta, sin modificaciones en el contenido de Ca, dan como resultado cambios en la relación Ca/Proteína de la misma. Este hecho merece tenerse en cuenta debido a que la dieta hiperproteica (30% de proteínas) es la que presenta la menor relación Ca/Proteína, y como consecuencia de su ingesta, se observó una mayor concentración de P y menor relación Ca/P en el fémur. Este hecho sugeriría una cierta alteración en la composición mineral del hueso, que concordaría con lo expuesto por otros autores, quienes postulan que el aumento en la concentración proteica de la dieta traería aparejado un aumento en los requerimientos de los minerales, entre ellos el del Ca (112).

### 1.3 PERIODO DE CRECIMIENTO ACELERADO:

Como ya se mencionó, los efectos deletéreos producidos por el "stress" nutricional son mayores cuanto más temprana es la edad a la que se instale la desnutrición y cuanto más tiempo se tarde en subsanar el problema. Por tal motivo, resulta de sumo interés encontrar el medio adecuado para lograr una rápida recuperación nutricional, alcanzando la composición corporal normal del individuo para su edad cronológica, en el menor período de tiempo posible.

Para encarar adecuadamente el problema es necesario tener en cuenta que, independientemente de que la deficiencia

original haya sido calórica, calórico-proteica o proteica, durante el período de recuperación, las proteínas pasan a ser el factor limitante para la síntesis de nuevos tejidos; por esa razón se hace necesario determinar cual es la concentración de proteínas que asegure que se cubra el requerimiento proteico, al mismo tiempo que se cubra el requerimiento energético. Bajo estas condiciones podrán lograrse aceleradas velocidades de crecimiento compensatorio y, por ende, una acelerada recuperación nutricional.

Desde el punto de vista de este trabajo se hace necesario también estudiar los cambios que se producen a nivel óseo como consecuencia de modificaciones en la concentración proteica de la dieta sin variaciones simultáneas en los niveles de Ca. Esto se funda en que durante una acelerada recuperación nutricional, existe una VGP importante que implica a su vez una gran retención de Ca para que, una vez alcanzada la recuperación del peso corporal, las dimensiones y composición química del organismo sean las adecuadas.

El crecimiento normal está dado por una asociación entre la edad cronológica del animal y su desarrollo. Por otra parte, se define como crecimiento compensatorio al producido durante la recuperación nutricional que sigue a un período de desnutrición. Este crecimiento es independiente de la edad cronológica y generalmente muy superior al crecimiento normal esperado. Es conocido que ciertos procesos de maduración se encuentran ligados a la edad cronológica más que el tamaño corporal; lo inverso ocurre con otros, en los que el tamaño corporal es el factor condicionante. El crecimiento de los huesos largos se ajusta al segundo tipo de procesos. Si se considera como representativo de este tipo de huesos al fémur, se ha postulado que, durante el crecimiento compensatorio, su crecimiento se acelera pero no en una medida apropiada al rápido aumento del peso corporal; en consecuencia, los huesos largos permanecen más cortos que lo que corresponderían al nuevo peso del organismo (113).

Con este tipo de crecimiento acelerado, los animales

recuperan una determinada masa corporal en un período breve. En este punto, si se usa como criterio de crecimiento al aumento de peso corporal, el fémur es morfológicamente y químicamente inmaduro; si, en cambio, los resultados se analizan en función del tamaño del fémur, se demuestra que durante el crecimiento acelerado se producen huesos químicamente normales pero morfológicamente inmaduros. La diferencia observada en la relación entre la composición química del hueso con respecto al peso corporal o a la longitud del fémur, se debe a que la forma normal del hueso es la resultante del balance existente entre la velocidad de crecimiento aposicional y longitudinal, y estos dos parámetros son afectados de una manera diferente por el estado nutricional (114). La concentración proteica parecería influir más sobre el crecimiento longitudinal, mientras que no afectaría en igual medida al aposicional, dando lugar a alteraciones en las proporciones de los huesos largos.

Como puede observarse en la tabla 5, durante la etapa de crecimiento acelerado, la recuperación en el peso de los animales realimentados, respecto de sus pares normales, dependió de la concentración proteica de la dieta experimental utilizada. De los tres niveles proteicos, el único que durante este período produjo crecimiento compensatorio fue el de la dieta con 20% de proteínas y en consecuencia, sólo los animales del grupo D20% alcanzaron el peso de sus pares N20%; paralelamente a la recuperación en el peso corporal existió una recuperación similar en el peso y longitud del fémur. Durante dicho período la composición química del hueso no mostró cambios en ninguno de los parámetros medidos, sugiriendo que, bajo estas condiciones, se produjo una mineralización normal.

Los animales pertenecientes al grupo D10% no alcanzaron la recuperación debido a que la concentración proteica de la dieta utilizada no permitió una velocidad de crecimiento compensatorio: en consecuencia, ni el peso corporal, ni la longitud y peso del fémur alcanzaron los niveles de sus pares N10% para la misma edad. La menor concentración de Ca y P, así como

el porcentaje de cenizas en los animales pertenecientes al grupo D10%, sin cambios en la relación entre composición mineral y materia orgánica, sugiere que, el bajo nivel de proteínas en la dieta de recuperación no subsanaría la disminución de los procesos metabólicos que ya se encontraban alterados por la desnutrición proteica previa. Por otro lado, la baja concentración proteica actuaría interfiriendo, en consecuencia, no sólo con la síntesis de matriz orgánica, sino también, afectando los mecanismos implicados en el aporte de los nutrientes necesarios para la correcta mineralización.

Con la dieta que aportaba 30% de proteínas se observó un comportamiento similar a los animales alimentados con la dieta al 10% de proteínas; por no existir una velocidad de crecimiento compensatorio no se alcanzó el peso corporal, ni la longitud ni el peso del fémur correspondiente al de sus pares normales. En este caso también la concentración de Ca y P, así como el porcentaje de cenizas fue menor en el grupo de animales D30%, pero además fue menor la relación mineral a matriz orgánica y la relación Ca/Fósforo del fémur (Tablas 12 a 14). Este hecho sugiere un comportamiento diferente al observado en los animales alimentados con 10% de proteínas. La dieta hiperproteica produciría un mayor depósito de materia orgánica, alterando la correcta mineralización, posiblemente por una deficiencia relativa en el aporte de Ca. Esto confirmaría lo encontrado por otros autores en el sentido de que el aumento en el aporte proteico produciría un aumento en los requerimientos minerales, entre ellos el del Ca (112).

#### 1.4 PERIODO DE CRECIMIENTO LENTO:

Recordemos que en esta etapa los animales se encuentran entre las edades que corresponden a la pubertad y al estado adulto. Como se había mencionado, en este período de la vida, los requerimientos nutricionales se reducen porque los animales sólo necesitan mantener los tejidos ya formados.

En nuestro estudio, debido a que los animales del

grupo D20% ya se habían recuperado en el período anterior, su comportamiento durante esta etapa debería ser semejante al de sus pares N20%; esta hipótesis fue confirmada ya que existió un aumento en el peso corporal con un aumento paralelo en el peso y la longitud del fémur, sin diferencia entre animales normales y desnutridos. Del mismo modo, tampoco se observaron diferencias significativas en los análisis químicos del fémur (tabla 12 a 14 y tabla 5).

Para los animales alimentados con 10% de proteínas existió un aumento en la velocidad de crecimiento compensatorio durante esta etapa, de tal manera que, los animales D10% alcanzaron, al finalizar la experiencia, tanto el peso corporal como el peso y la longitud del fémur correspondiente al de sus pares normales (tabla 5). Tampoco para este grupo de animales se observaron cambios en los análisis químicos del fémur. Debe hacerse notar que el peso corporal, al finalizar la experiencia, fue significativamente menor ( $p < 0.001$ ) al alcanzado por los animales alimentados con 20% de proteínas, sugiriendo que, si bien se logra la recuperación de los animales D10% respecto de sus pares N10%, el peso corporal al finalizar es inferior al logrado cuando la concentración proteica de la dieta es la más adecuada.

Al igual que en el período anterior, los animales D30% no produjeron velocidades de crecimiento compensatorio, y en consecuencia, no lograron alcanzar ni el peso corporal ni el peso y longitud de los fémures correspondientes a sus pares N30% (Tablas 5 y 12). Si bien la concentración de Ca no presentó diferencias significativas entre normales y desnutridos, la concentración de P, la relación Ca/Fósforo, porcentaje de cenizas y relación mineral a materia orgánica fue menor para los animales D30%, confirmando nuevamente una alteración en la composición mineral normal del hueso.

En resumen, del análisis en conjunto de los tres períodos experimentales podemos concluir que, la concentración

proteica de la dieta, afecta al peso corporal y, la recuperaci3n nutricional se produce como consecuencia de su efecto sobre la velocidad de crecimiento compensatorio. La longitud del f3mur est3 intimamente relacionada al peso corporal, al menos dentro de los rangos de edad incluidos en este estudio, tal como puede observarse en la figura 33, en la que se muestra la correlaci3n lineal entre ellos. Se debe aclarar que cuando se alcanza el estado adulto todo aumento de peso se debe al dep3sito de grasa, sin producirse formaci3n de nuevos tejidos; por lo cual, aunque el peso corporal siga aumentando, debido a dicho dep3sito, deja ya de correlacionar con la longitud del f3mur.

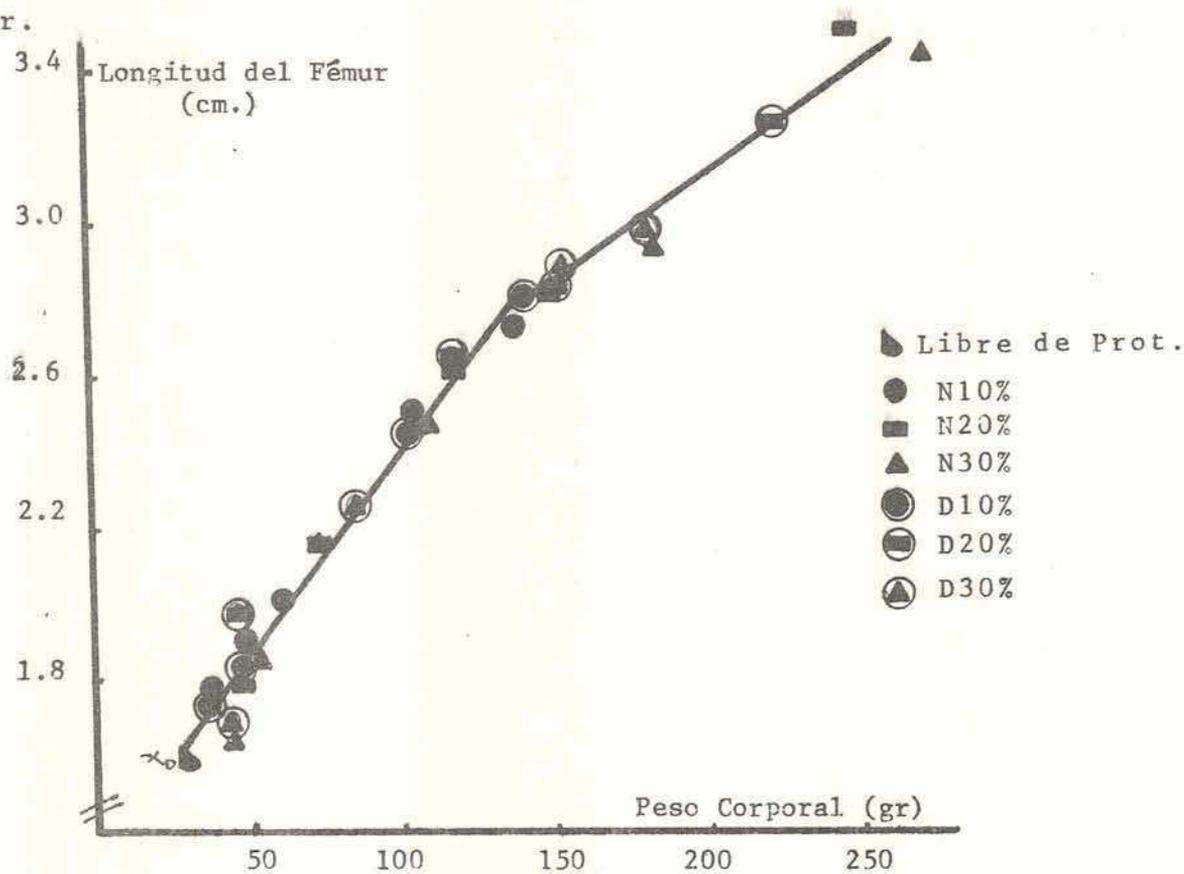


Figura 33

En este estudio se demuestra que, la dieta conteniendo 20% de prote3nas es la que produce un acelerado crecimiento compensatorio sin cambios o alteraciones en los par3metros que determinan la normal osificaci3n del tejido esquel3tico, medido

a través del índice de cristalinidad. Esta dieta no sólo es la que produce la recuperación nutricional en el menor tiempo, si no también la que la logra sin afectar la correcta mineralización, de forma tal que la repleción del animal se alcanza con una composición corporal normal. Es importante destacar que en este caso la relación Ca/Proteína de la dieta fue de 0.03.

Por otra parte, la dieta al 10% de proteínas produjo aumento en la velocidad de crecimiento compensatorio, pero, en un período de tiempo más prolongado. En consecuencia, el proceso de recuperación se logró más tardíamente, con todas las implicancias que ello trae aparejado. Además, aunque los animales D10% hayan logrado la similitud en los parámetros de sus pares normales, a los 95 días de vida los animales permanecieron más pequeños y, en consecuencia, todos los parámetros relacionados al peso corporal fueron menores a lo normal; esto se produjo aún cuando la concentración de Ca fue la adecuada, tal como lo demuestra la correcta mineralización de la materia orgánica formada. En esta dieta la relación Ca/Proteína fue de 0.06.

La dieta hiperproteica en cambio, no produjo a lo largo de la experiencia una velocidad de crecimiento compensatorio; por otra parte, dió lugar a una mineralización anormal, posiblemente debido a una deficiencia relativa de Ca. Dado que la relación Ca/Proteína en este caso fue de 0.02, puede postularse que esta relación es francamente inadecuada para una correcta repleción del tejido esquelético y que el Ca podría ser el factor limitante.

## 2.- INTERRELACIONES ENTRE ESTADO NUTRICIONAL Y RETENCION DE CALCIO:

### 2.1 PERIODO DE ADAPTACION A LA DIETA, POST-DESTETE

La síntesis de tejidos que se realiza durante la etapa del crecimiento lleva aparejada la retención de Nitrógeno; esta última depende, a su vez, del aporte energético y del porcentaje de calorías proteicas de la dieta. La máxima res-

puesta se obtiene con una concentración óptima de proteínas, por encima y por debajo de la cual la eficiencia en la retención nitrogenada disminuye. Como ya se mencionó, en nuestra experiencia, durante la primer semana post-destete, el mayor aumento de peso se obtuvo con la dieta conteniendo 20% de proteínas.

En el caso particular del tejido esquelético, su crecimiento requiere de la síntesis adecuada del soporte -o matriz orgánica de Colágeno- así como del depósito de minerales, fundamentalmente de Ca y P. Por lo tanto, para que se alcance una composición ósea normal, debe existir un equilibrio entre la retención de sus distintos componentes, especialmente N, Ca y P.

La relación existente entre la nutrición proteica y la absorción de Ca ha sido ampliamente estudiada, tanto en humanos como en ratas. En 1977, Miller y Col. (110) demostraron que la adecuación proteica durante el crecimiento es un factor importante para la absorción de Ca y, en consecuencia, para el proceso de calcificación, sin llegar a determinar el mecanismo por el cual la proteína aumenta el crecimiento esquelético y la densidad ósea.

En nuestro estudio comprobamos que la adecuación proteica es la condicionante no sólo del crecimiento corporal, sino paralelamente a éste, del desarrollo de los huesos largos. En cambio, la densidad ósea, medida químicamente a través de la concentración de Ca en hueso, no fue alterada por la concentración proteica de la dieta.

En la literatura ha sido descripta extensamente la influencia de los distintos componentes de la dieta sobre el proceso de absorción de Ca. Sin embargo, esas influencias pueden variar cuantitativamente en función de otras, de las cuales la más importante sería la cantidad de Ca que el tejido esquelético debe retener, o sea, el grado de saturación del mismo: así, Stanbury luego de analizar y reevaluar extensivamente datos experimentales, tanto en humanos como en animales de la-

boratorio, concluye que "el hueso libera cierto tipo de agente humoral que regula la absorción de Ca de acuerdo a sus necesidades" (115). En consecuencia, se podría argumentar que el intestino provee el "medio" para suministrar el Ca hacia los sitios del cuerpo donde su presencia es esencial y que la absorción de Ca no es un fin en sí mismo sino, que se encuentra supeditada a otras influencias más importantes como el grado de saturación del esqueleto y el mantenimiento de la constancia en los niveles séricos de Ca.

Debido a que el 99% del Ca del organismo está localizado en el tejido esquelético, es lícito suponer que prácticamente el total del Ca absorbido que es retenido se incorpora al hueso. Por definición, balance es la resultante de la diferencia entre la ingesta y las eliminaciones producidas fundamentalmente por las vías urinaria y fecal; es decir entonces que, en el caso particular del Ca, el balance representa, en última instancia, su retención aparente. Por otra parte, debido a que la eliminación urinaria, durante el crecimiento, corresponde a menos del 1% de lo ingerido, todos los cambios que a dicho nivel se produzcan serán despreciables frente a los que eventualmente pudieran producirse en el intestino; en consecuencia, todos los procesos que de una u otra manera afecten a la absorción serán los que modifiquen, en definitiva, la retención de Ca (116).

Esto fue comprobado en nuestro estudio, donde, independientemente de la concentración proteica de la dieta, el balance de Ca mostró una correlación altamente significativa con el Ca absorbido, con una pendiente equivalente a un ángulo de  $45^\circ$  (ecuación 7).

Entre los factores más estudiados acerca de sus influencias sobre la absorción de Ca se encuentran la edad y la concentración proteica de la dieta. Se ha observado que la absorción de Ca disminuye con la edad hasta alcanzar el nivel más bajo en el adulto, lo cual se asocia a una disminución en las necesidades, que en este período son sólo las de mantenimiento. En cuanto al efecto de la concentración proteica,

en adultos, se ha observado un aumento en la absorción de Ca con el aumento en la concentración proteica de la dieta (4, 31, 29,30,32), efecto que no fue demostrado en niños (34) ni en ratas jóvenes (35,36). Estas diferencias en el comportamiento se deberían a que en los individuos jóvenes, la absorción de Ca es de por sí elevada, debido a que se deben absorber mayores cantidades de Ca para satisfacer sus necesidades de crecimiento. En nuestro estudio, se determinó el efecto de la concentración proteica de la dieta sobre la absorción aparente de Ca, debido a que no se determinó el Ca fecal endógeno. Sin embargo, los datos de la literatura permiten asumir que el Ca endógeno sería irrelevante con respecto a las cifras de Ca fecal encontradas en este estudio y, por consiguiente, podría inferirse que la absorción aparente no diferirá significativamente de la real (86). Sobre esta base, podría postularse que los resultados de este estudio corroboran que no existe una influencia de la concentración proteica de la dieta, al menos durante el período post-destete.

En cuanto a la eliminación urinaria, en 1920, Sherman (117) encontró que la adición de carne a una dieta baja en Ca producía aumento de la eliminación urinaria de dicho elemento; desde entonces, un gran número de estudios se llevaron a cabo para corroborar este hallazgo con resultados contradictorios. Así, Linkswiler y col.(43-44) encontraron, en individuos jóvenes, que el aumento en la ingesta proteica, con una ingesta de Ca y P constante pero alta, daba por resultado un aumento en el Ca urinario y causaba a los mismos un balance de Ca negativo; este estudio fue corroborado por otros (22,45,118). Sin embargo, Spencer y col. (32) encontraron que con una dieta baja o normal en Ca, el incremento en la ingesta proteica, no producía el aumento en la eliminación urinaria de Ca en ratas machos jóvenes. En nuestro estudio, durante la primer semana posterior al destete, la eliminación urinaria de Ca no se vió modificada por la concentración proteica de la dieta, si los animales se encontraban en adecuación proteica. Esto coincidiría con lo ex

presado anteriormente respecto de la irrelevancia de la eliminación urinaria, como determinante de la retención de Ca durante este período.

El hecho de que la malnutrición calórico-proteica se caracterice por la falta de crecimiento corporal e interferencia en el crecimiento longitudinal del hueso se debe a un pobre aporte y retención de nutrientes. En caso de deficiencia proteica severa, se producirían modificaciones mucosales que llevarían a una malabsorción generalizada; estudios en humanos y animales revelaron que cierta clase de nutrientes, tales como proteínas, grasas, hidratos de carbono y vitaminas son absorbidas en mucha menor cantidad por los organismos con deficiencia proteica (119).

En el caso particular del Ca, ciertos autores postulan que la insuficiente retención producida por la malnutrición proteica, se debería a una malabsorción, la que podría ser revertida por la suplementación con proteínas o aminoácidos (23). En cambio, la pobre retención de Ca, producto de una malnutrición calórica generalizada, se ha atribuido a la hipercalciuria producida por un defecto en la reabsorción renal asociada a los efectos cetogénicos de la deficiencia energética (120). En forma porcentual, la eliminación urinaria afecta en mucho menor medida a la retención que la disminución en la absorción observada en la deficiencia proteica; sobre la base de todas estas observaciones, es lógico suponer que el déficit calórico afectaría en menor proporción a la retención cálcica que la deficiencia proteica y, en consecuencia, se debe esperar que este último tipo de malnutrición tenga un mayor efecto detrimental sobre el tejido esquelético (23).

En cuanto al efecto de la desnutrición proteica sobre la absorción y el transporte de Ca, se ha observado que una concentración proteica del 4% reduce en un 40% la actividad de la CaBP respecto de una dieta conteniendo 20% de proteínas (116). Se supone que el déficit proteico produciría la disminución en la síntesis de dicha proteína por el inadecuado aporte de amino-

ácidos o simplemente por atrofia no específica de la mucosa intestinal (121,122). Debido a que el transporte activo de Ca es mediado por dicha proteína, es lógico suponer que, en tal situación, se deteriore el mecanismo total de absorción (123).

Por otra parte, se ha encontrado en el suero de animales en depleción proteica una disminución de un 10% de la concentración total de Ca respecto de sus controles normales; en cambio la Albúmina, proteína sérica a la cual el Ca se encuentra ligado, se reduce en un 50%. Si bien en ratas no se conoce la capacidad de unión del Ca a la Albúmina, se sabe que en humanos es de un 20% del total de la molécula y, en consecuencia, es posible que aunque la concentración plasmática de Albúmina disminuya, existan aún suficientes sitios de unión como para mantener la concentración de Ca sérica normal. Sobre estos datos se ha postulado que, la deficiencia marginal de Ca, asociada con la deficiencia proteica no se debería a problemas de transporte sino a un impedimento en la absorción intestinal de Ca (109). Esta situación es totalmente diferente de la que se observa cuando la deficiencia de Ca es debida a otras causas, como por ejemplo, disminución en la concentración de Ca en la dieta o por deficiencia de Vitamina D; en estos dos casos la reducción en la concentración del Ca plasmático es mucho más pronunciada y, en consecuencia, los cambios en hueso -tales como aumento en la resorción osteoclástica y bloqueo en la mineralización- que normalmente se asocian a estas dos deficiencias no deben necesariamente observarse en el caso de deficiencia proteica (109).

En nuestro laboratorio hemos encontrado que en los animales desnutridos la disminución en la concentración de Albúmina alcanza apenas a un 25% (124). Por otra parte, los niveles de PTH permanecieron, en nuestro estudio, dentro de rangos fisiológicos normales. Esto último se produce sólo cuando la concentración de Ca iónico en suero no se encuentra disminuida. El análisis en conjunto de estos hallazgos hace suponer

que el Ca aportado por la dieta es correctamente utilizado sin que la deficiencia proteica interfiera con la mineralización de la escasa matriz orgánica formada. Por otro lado, la existencia de niveles de PTH dentro de los rangos fisiológicos normales corroborarían que no existe una reabsorción osteoclástica aumentada (Tabla 11).

En cuanto al efecto de la desnutrición proteica sobre la excreción de Ca, algunos autores encuentran que la velocidad fraccional de excreción es normal, de manera tal que, la cantidad de Ca excretada por orina y heces no está disminuída (109). Esto podría deberse a un aumento en la secreción endógena, por intermedio de los jugos digestivos, con pobre reabsorción a lo largo del intestino, dando lugar a una mayor pérdida fecal o a una interferencia en la reabsorción renal, tal que, el Ca urinario se encuentre por encima de lo normal (108). En este estudio, la eliminación urinaria de Ca y P de los animales alimentados con la dieta libre de proteínas fue significativamente menor a la de los que ingirieron cualquiera de las otras dietas experimentales. Por otra parte, la eliminación fecal estuvo aumentada, aunque sólo en forma significativa, respecto de la dieta al 20% de proteínas (tabla 7). Este último hecho dió por resultado una disminución en la cantidad de Ca y P absorbido, así como del porcentaje de absorción. Estos hallazgos confirmarían que en la desnutrición proteica, la mayor pérdida de Ca se produce por heces y apoyarían las conclusiones de Mc Cance en el sentido de que puede absorberse muy poco Ca si la dieta no contiene proteínas o aminoácidos (125); la absorción de Ca requiere la síntesis en intestino de su proteína transportadora, CaBP, bajo el control del metabolito activo de la Vitamina D, el  $1,25$ dihidroxi $D_3$ , y en animales con deficiencia proteica, la síntesis de este "carrier" está disminuída (108).

El hecho de que durante este período la cantidad de Ca absorbido por unidad de Vitamina D ingerida y de que los niveles de PTH estén dentro del rango normal (tabla 7), sugiere

que la transformación de la Vitamina D proveniente de la dieta en su metabolito activo fue suficiente como para inducir normalmente el mecanismo de absorción del Ca, y que, la dis-minución en la absorción, sólo se produjo por la deficiencia de los aminoácidos necesarios para la síntesis de la CaBP.

## 2.2 PERIODO DE RECUPERACION:

El período de realimentación, como ya se mencionó en la página 64, puede dividirse en dos partes:

- a) Crecimiento acelerado
- b) Crecimiento lento

Independientemente del período de que se trate, durante la etapa de recuperación la retención de Ca se verá in-fluída al menos por tres factores íntimamente interrelacionados:

- 1) Edad de los animales
- 2) Estado nutricional previo
- 3) Concentración proteica de la dieta

Por otra parte, la ganancia de peso, que implica re-tención nitrogenada, también estará influenciada por los tres factores mencionados (tabla 5), de modo que, la VGP irá disminuyendo con el aumento en la edad de los animales y la capacidad de acelerarla será mayor en los animales desnutridos que en los normales. La concentración proteica de la dieta afectará la velocidad con que se desacelerarán las ganancias ponderales a la vez que determinará el tiempo requerido por los animales desnutridos para alcanzar la composición corporal de sus pares normales.

Sobre estas bases puede postularse que, cuanto mayor sea la retención nitrogenada, mayor será la VGP y por ende mayor será la cantidad de Ca que se necesitará retener para lo-grar una composición ósea adecuada al desarrollo corporal.

Estas interrelaciones entre la VGP y la retención de Ca, explicarían la mayor capacidad de retención de Ca que presentan los animales jóvenes con respecto a los adultos, tanto

para los animales normales como para los desnutridos (figura 34 a,b); también explicarían la caída en la absorción absoluta y en el porcentaje de absorción con el aumento en la edad de los animales (tablas 8 y 10) y apoyarían lo postulado por Stanbury (115) en el sentido de que la absorción de Ca no es un fin en sí mismo, sino que se encuentra sujeta al grado de crecimiento y saturación del esqueleto.

Un análisis en conjunto de todos estos hechos nos permitiría inferir que la retención de Ca muestra un gradiente continuo, entre el período de crecimiento activo y la edad adulta, relacionado a la VGP, de manera tal que cuando se alcanzan velocidades de crecimiento tendientes a cero, los animales sólo retendrán el Ca necesario para mantener el recambio óseo.

En el ítem 2.1 se discutió el efecto de la concentración proteica sobre la absorción de Ca durante el período postdestete; durante la etapa de realimentación, las dietas cuyas concentraciones proteicas fueron del 20 y 30%, produjeron absorciones significativamente mayores a la correspondiente a 10% de proteínas (tabla 8). Este efecto parecería sugerir que, a diferencia del período postdestete, en este período la proteína tendría un efecto beneficioso sobre la absorción de

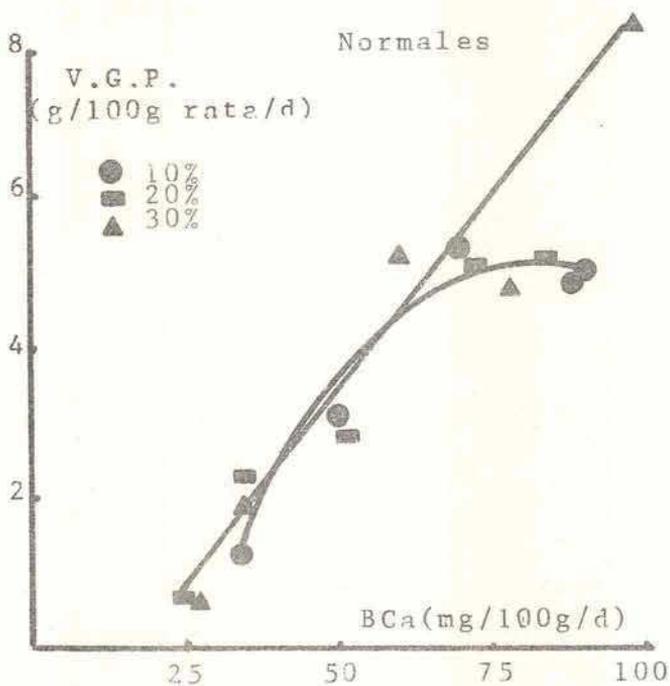


Figura 34a.

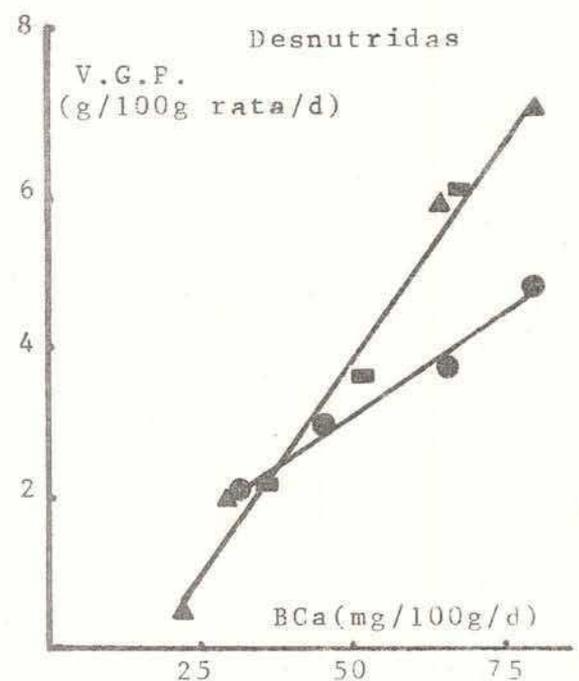


Figura 34 b.

Ca; sin embargo, debido a que los animales alimentados con la dieta al 10% de proteínas ganaron significativamente menos peso (tabla 5) podría postularse que no es un efecto específico de la proteína a nivel de la absorción, sino que se encuentra mediado por la VGP del animal. Esto estaría apoyado por el hecho de que durante la etapa de crecimiento lento, el porcentaje de absorción no varió con la concentración proteica de la dieta (tabla 8).

El Ca urinario mostró durante todo el período de realimentación, tanto para los animales normales como para animales desnutridos, una tendencia a aumentar con la concentración proteica de la dieta. Lo mismo que en la etapa postdestete, su valor representó aproximadamente un 1% del Ca ingerido y, en consecuencia, los efectos que a este nivel se produjeron tuvieron muy poca influencia sobre la retención de Ca. El conjunto de los resultados, si bien verifica una influencia de la concentración proteica sobre la eliminación urinaria de Ca, permite descartarla como factor que interfiera en la mineralización del tejido óseo, al menos durante los períodos de este trabajo.

Durante el período de crecimiento normal, uno de los componentes que es afectado por la VGP es el crecimiento óseo. Por ejemplo, como se hizo mención en el ítem 1.4, existe una correlación entre el peso corporal y la longitud del fémur que es independiente de la edad, concentración proteica de la dieta o estado nutricional previo (figura 33). Del estudio más detallado de dicha figura surge que, esta función podría descomponerse en dos zonas con distinta pendiente: la primera, que corresponde a la zona de mayores VGP, aproximadamente hasta los 150 g. de peso corporal, presenta la mayor pendiente; la segunda, a partir de dicho valor, corresponde a una zona de menores VGP y presenta menor pendiente. El punto de inflexión coincide con VGP alrededor de los 2 g/100g rata/día. El principal proceso que ocurre en la primera zona corresponde a la elongación de los huesos largos, mientras que en la segunda zona, si bien continúa la elongación, lo hace en una forma más lenta debido

a que el proceso predominante en esta etapa es el aumento en la concentración mineral. En concordancia con ésto, en las figuras 35 a y b, se verifica que la concentración de Ca en fémur se relaciona a la retención de Ca, pero que es también afectada por la VGP y la concentración proteica de la dieta. Cuando las VGP son altas, como es característico del proceso correspondiente a la elongación de los huesos largos, el Ca retenido se utiliza preferentemente para la mineralización de la matriz orgánica preformada, sin gran variación en la concentración de Ca en hueso. Por el contrario, cuando las VGP son bajas -por debajo de 2g/100g rata/día- las pequeñas cantidades de Ca retenidas son, en su mayor parte, utilizadas para aumentar la concentración de minerales en fémur con el fin de alcanzar la maduración y tamaño definitivo.

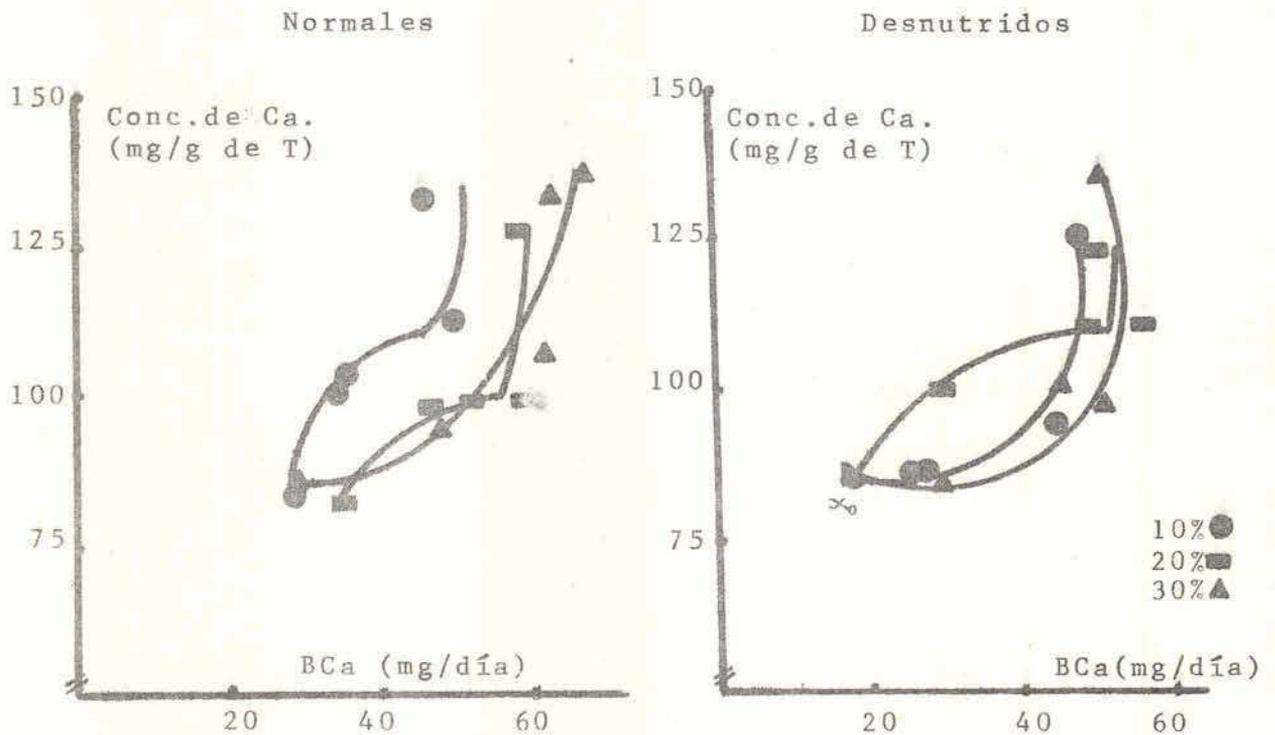


Figura 35 a.

Figura 35 b.

1.- GENERALIDADES

Es bien conocido el hecho de que los individuos, durante los primeros años de vida, constituyen el grupo más vulnerable a los efectos ocasionados por la malnutrición y la desnutrición siendo la gravedad de sus consecuencias mayor cuanto menor sea la edad a la que se instalen.

La malnutrición calórico-proteica constituye el problema nutricional de mayor prevalencia en el mundo y se presenta, como ya se ha mencionado en la parte experimental con animales de laboratorio, como un espectro continuo de situaciones patológicas de diversos tipos y grados dependiendo, entre otros factores, de la precocidad, severidad del déficit, tiempo de padecimiento y tipo de dieta consumida.

Este síndrome es el responsable de la muerte de una enorme cantidad de niños y acarrea consecuencias irreversibles en los sobrevivientes. Entre las múltiples anormalidades producidas se pueden citar: alteraciones a nivel del desarrollo del SNC, trastornos de conducta, disminución del cociente intelectual, alteraciones enzimáticas y retraso en el crecimiento, muchas veces irrecuperable. De todas ellas las que, en nuestro caso particular, más nos interesan son las que se producen a nivel óseo. En niños malnutridos se ha descrito la presencia de inmadurez esquelética, retardo en el crecimiento de los huesos largos y deficiencia de hueso cortical, llegándose en casos de malnutrición severa a observarse distintos grados de raquitismo (104).

Por lo expuesto, se hace necesario reconocer y tratar los efectos de la deficiencia nutricional de Ca asociada a la malnutrición calórico-proteica, y esclarecer las relaciones Ca/Proteínas de la dieta de recuperación más adecuada, para que, una vez lograda la recuperación nutricional se alcance al mismo tiempo una composición corporal armónica.

## 2.- METODOLOGIA

### 2.1 PACIENTES:

Se estudiaron comparativamente 29 niños, del sexo masculino, con edades comprendidas entre 1 y 19 meses, internados en la unidad metabólica del Policlínico Dr. A. Posadas (Haedo-Pcia. de Buenos Aires).

A su ingreso se determinó el grado de desnutrición de los niños en base al déficit de Peso para Talla actual, (126) a partir de las tablas de crecimiento y desarrollo de La Plata (tabla 15).

### 2.2 PARTE EXPERIMENTAL:

Los pacientes fueron mantenidos en la unidad metabólica del Hospital durante una semana: las primeras 48 hs. constituyeron un período de adaptación al medio ambiente y a la dieta realizándose posteriormente tres días de balance.

Se registró diariamente, el peso, la talla de los niños y el consumo de alimentos--por diferencia de pesadas de las mamaderas con precisión de  $\pm 1.0g$ .

Se recogió la orina en períodos de 24 hs., en frascos de vidrio con 0.5 ml. de ClH concentrado como conservador y después de medir su volumen y densidad se refrigeraron a  $-20^{\circ}C$  hasta su análisis. Las heces de los tres días se recolectaron sobre formol al 10%, secándose la totalidad de las mismas en estufa a  $100^{\circ}C$  hasta peso constante; posteriormente se molieron para homogeneizarlas y se guardaron en frascos de polietileno, en desecador al vacío hasta su análisis.

### 2.3 DIETAS

Los niños fueron alimentados "ad libitum" con una de las fórmulas lácteas comerciales cuya composición figura en la tabla 16. Cada fórmula constituyó la única fuente de nutrientes, las que se utilizaron diluidas al 10 ó 15% de

T A B L A 15

Edad meses <sup>d</sup>	Relación Peso/Talla *	Peso Promedio (kg)	V.G.P g/kg/d	Balance de N. mg/kg/d	Edad meses <sup>d</sup>	Relación Peso/Ta- lla.*	Peso Pro medio (kg)	V.G.P g/kg/d	Balance de N. mg/kg/d
2 <sup>22</sup>	70.9	4.205	19.8	576.0	4 <sup>0</sup>	76.0	3.655	27.0	915.0
3 <sup>8</sup>	78.0	5.345	34.3	652.0	4 <sup>8</sup>	117.6	5.150	19.4	645.0
3 <sup>15</sup>	75.9	4.045	13.8	416.5	4 <sup>28</sup>	96.9	4.815	16.0	430.0
3 <sup>20</sup>	90.0	4.340	13.8	349.7	6 <sup>13</sup>	85.6	5.560	9.5	511.1
4 <sup>10</sup>	92.7	5.365	8.0	502.0	6 <sup>16</sup>	71.0	4.203	19.8	514.9
5 <sup>0</sup>	89.5	4.015	-2.5	355.3	7 <sup>22</sup>	74.1	5.800	33.3	499.8
8 <sup>0</sup>	72.6	5.040	18.5	405.2	9 <sup>7</sup>	80.5	7.320	25.5	486.8
8 <sup>29</sup>	100.6	6.525	-1.5	549.0	9 <sup>13</sup>	68.1	6.270	7.4	597.0
9 <sup>0</sup>	52.5	4.976	18.0	361.5	9 <sup>17</sup>	74.6	4.060	22.9	254.5
9 <sup>14</sup>	93.5	7.175	6.0	298.2	10 <sup>11</sup>	69.3	7.190	17.6	230.5
11 <sup>10</sup>	89.2	6.780	0.0	277.8	12 <sup>6</sup>	77.8	7.090	7.1	657.2
12 <sup>25</sup>	78.4	7.515	-1.3	344.3	12 <sup>22</sup>	78.3	7.520	7.1	351.3
14 <sup>0</sup>	56.5	6.260	22.0	482.6	14 <sup>7</sup>	111.0	8.020	10.8	322.2
16 <sup>19</sup>	75.0	9.455	6.7	580.0	18 <sup>21</sup>	79.3	8.480	-4.7	222.2
18 <sup>14</sup>	79.4	8.425	5.9	160.0					

FORMULA I

FORMULA II

\* Relación Peso/Talla = Peso del niño en estudio respecto de un niño normal de igual Talla.

T A B L A 1 6

COMPOSICION DE LAS FORMULAS LACTEAS COMERCIALES

(g/100 g de peso seco)

FORMULA	1	2
PROTEINA (Nx6.25)	14.00	20.00
CALCIO	0.50	1.17
FOSFORO	0.37	0.50
GLUCIDOS	55.00	50.00
	(Lactosa + Sucrosa)	(Glucosa)
LIPIDOS	24.00	20.00
	(Grasa láctea y aceite de algodón)	(Aceites de coco y de algodón)
VITAMINA D (U.I.)	350.00	400.00
Carbonato de Ca g%	-	1.68
Relación Ca/Fósforo	1.37	2.34
Relación Ca/Proteína	0.036	0.056
Relación P/Proteína	0.026	0.025
Relación Vit.D/Ca	700.00	342.00
P% (*)	11.30	17.00

(\*) Calorías proteicas aportadas x 100 Kcal. totales.

acuerdo al estado clínico del paciente y según el criterio del pediatra interviniente. Para la preparación de los biberones, los polvos correspondientes a cada fórmula fueron pesados con precisión de  $\pm 0.5g$ . diluidos con agua destilada estéril y no fueron autoclavados.

La fórmula I se trataba de una leche en polvo modificada por el agregado de Sacarosa, Aceites Vegetales, Vitaminas y Minerales, cuyo principal aporte de Ca provenía del naturalmente presente en la leche. La fórmula II correspondió a un producto sintético libre de Lactosa compuesto por Caseinato de Ca (como fuente proteica), Glucosa, Aceites de Algodón y Girasol y el agregado de Vitaminas y Minerales. El principal aporte de Ca se realizó en esta dieta a partir del Carbonato de Ca agregado. Ambas fórmulas aportaban la cantidad de Vitamina D recomendada por FAO/OMS para niños normales de esas edades (127)

Quince niños fueron alimentados con la fórmula I y 14 con la fórmula II, siendo ambos grupos comparables desde el punto de vista de edad, estado de desnutrición y tolerancia a la dieta. En la tabla 15 se muestran las características de los niños incluidos en este estudio, agrupados según la fórmula utilizada en la recuperación.

### 3.- PRUEBAS DE BALANCE Y ABSORCIÓN:

Los cálculos de balance, absorción y porcentaje de absorción han sido ya detallados en el ítem correspondiente a animales de laboratorio.

### 4.- VELOCIDAD DE GANANCIA DE PESO:

Las ganancias de peso se expresaron como velocidad de crecimiento en función del peso corporal promedio durante el período de balance aplicando la fórmula detallada en el mismo ítem correspondiente a animales de laboratorio. Sus valores individuales para cada niño estudiado se muestran en la tabla 15, agrupados según la fórmula utilizada en la

recuperación.

## 5.- METODOS ANALITICOS:

### a) DETERMINACION DE LOS PESOS Y LAS TALLAS:

Para controlar el peso del paciente se utilizó una balanza Mettler PS 15 con precisión de  $\pm$  1g.; la talla fue determinada en mesa métrica.

### b) DETERMINACION DE NITROGENO:

Tanto la metodología empleada como los métodos analíticos han sido descriptos en el capítulo de materiales y métodos correspondientes a animales de laboratorio.

### c) DETERMINACION DE CALCIO Y FOSFORO:

En cuanto a la preparación de muestras, la metodología empleada tanto para las dietas como para las orinas y las heces ha sido descrita previamente en el capítulo correspondiente a materiales y métodos de animales de laboratorio, aplicándose los siguientes métodos analíticos:

#### i) CALCIO:

\* En orina: se realizó por titulación complejométrica con EDTA, utilizando Azul de Bromo-Naftol como indicador (128).

\*\* En heces y dietas: se realizó por el método de Clark y Collip (129).

#### ii) FOSFORO:

Para todas las muestras se aplicó la técnica colorimétrica de Fiske-Subarow (91), utilizando un espectrofotómetro Bauch & Lomb a 660 nm.

## 6.- METODOS ESTADISTICOS:

Todos los datos fueron analizados estadísticamente aplicando los siguientes test:

\* Anova 1 factor con el Test de Duncan como test "a

posteriori" para identificar los grupos que presentaban diferencias significativas debidas al consumo de las dietas experimentales.

- \* Test de paralelismo, para identificar aquellas pendientes significativamente diferentes. Con test de Tukey como test "a posteriori".

En ambos casos se utilizó un nivel de confianza del 99% ( $p \leq 0.01$ ) (95).

## R E S U L T A D O S

Como resultado de la alimentación "ad libitum", la ingesta de alimentos varió dentro de un rango muy amplio, observándose en todos los casos cifras varias veces superiores a las recomendadas por FAO/OMS (69). Así, las ingestas de proteínas oscilaron entre 2 y 8 g/kg/día, mientras la de Ca y P lo hicieron entre 82 y 413 mg/kg/día y 41 y 224 mg/kg/día respectivamente e independientemente de la fórmula utilizada.

### 1.- RETENCION NITROGENADA:

Independientemente de la dieta utilizada, la retención de N fue siempre positiva y varias veces superior a la esperada para niños normales de las mismas edades, tal como puede observarse en la figura 36.

La ganancia de peso fue una función lineal del balance nitrogenado, con una pendiente de 32 mg de N/g de tejido ganado, sin diferencias significativas en el valor de la misma entre ambas dietas (figura 37).

### 2.- RETENCION DE CALCIO Y FOSFORO:

Cuando los balances de Ca y P se graficaron en función de sus respectivas ingestas, se obtuvo una correlación muy elevada, sin observarse la meseta que es habitual encontrar en este tipo de estudios cuando se cubren los requerimientos (Figuras 38 a y b). La correlación entre ambos parámetros se

Figura 36

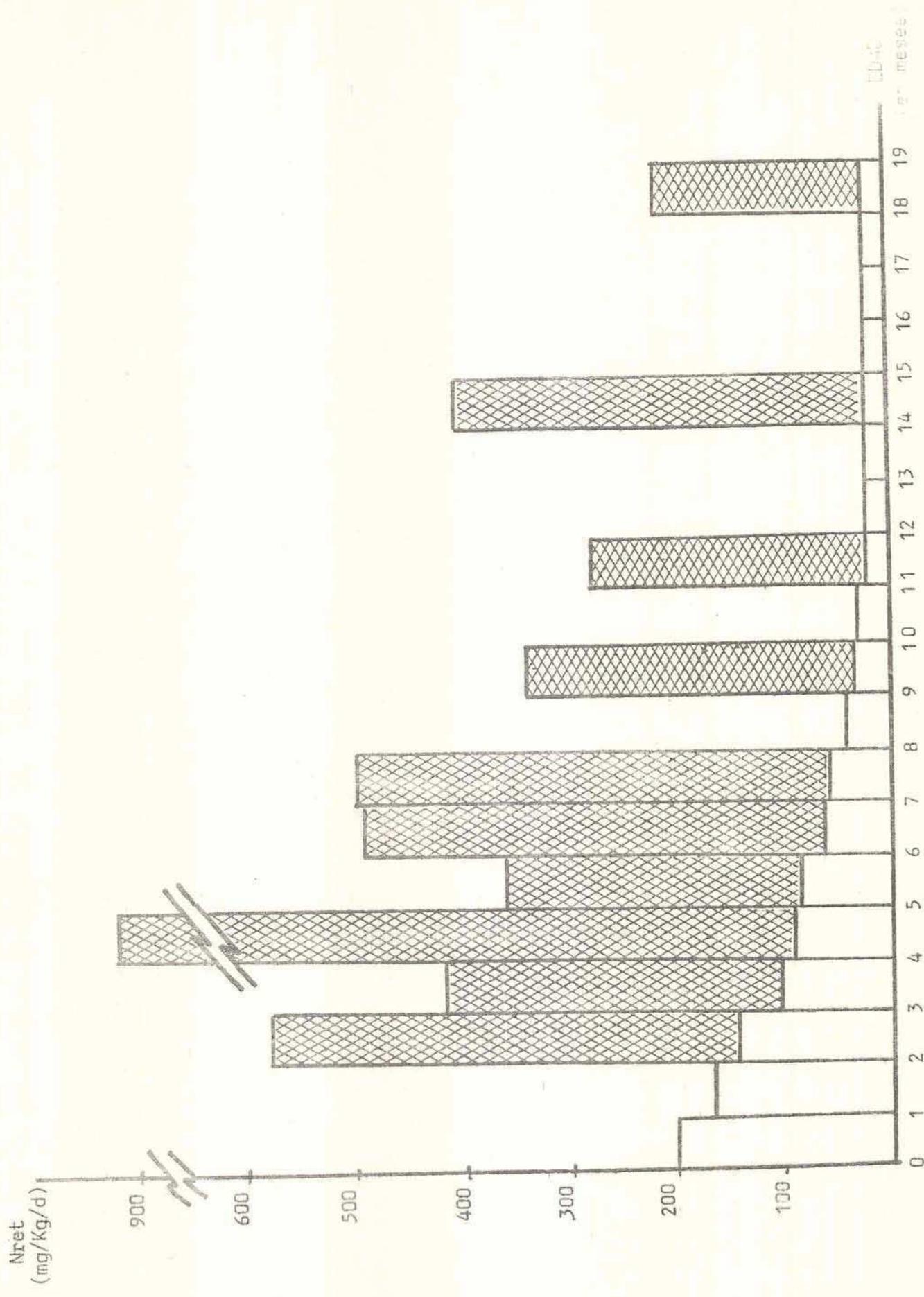
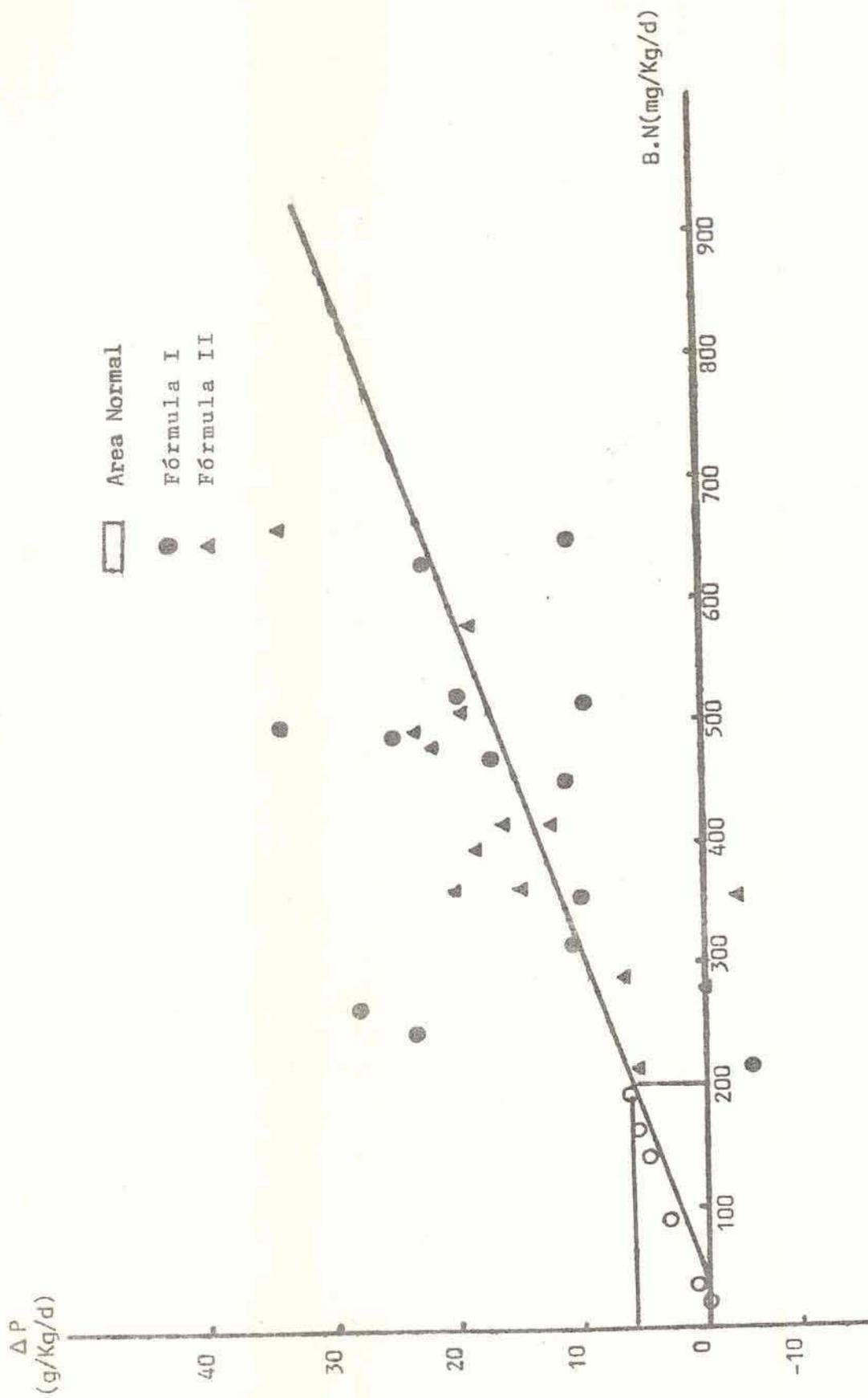


Figura 37



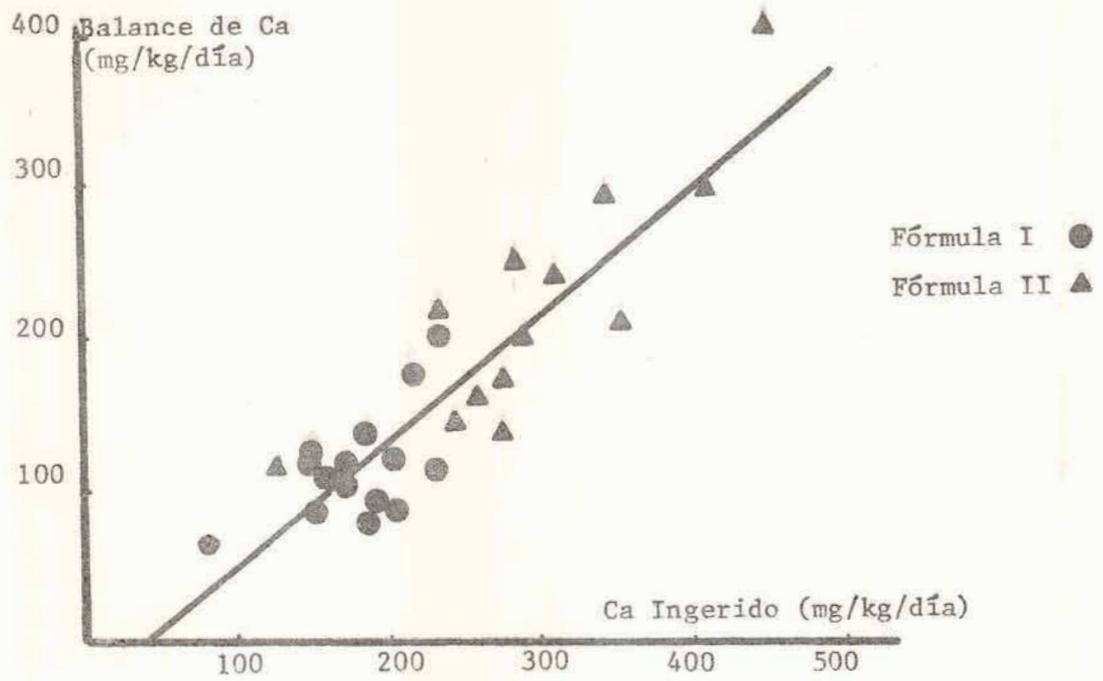


Figura 38 a.

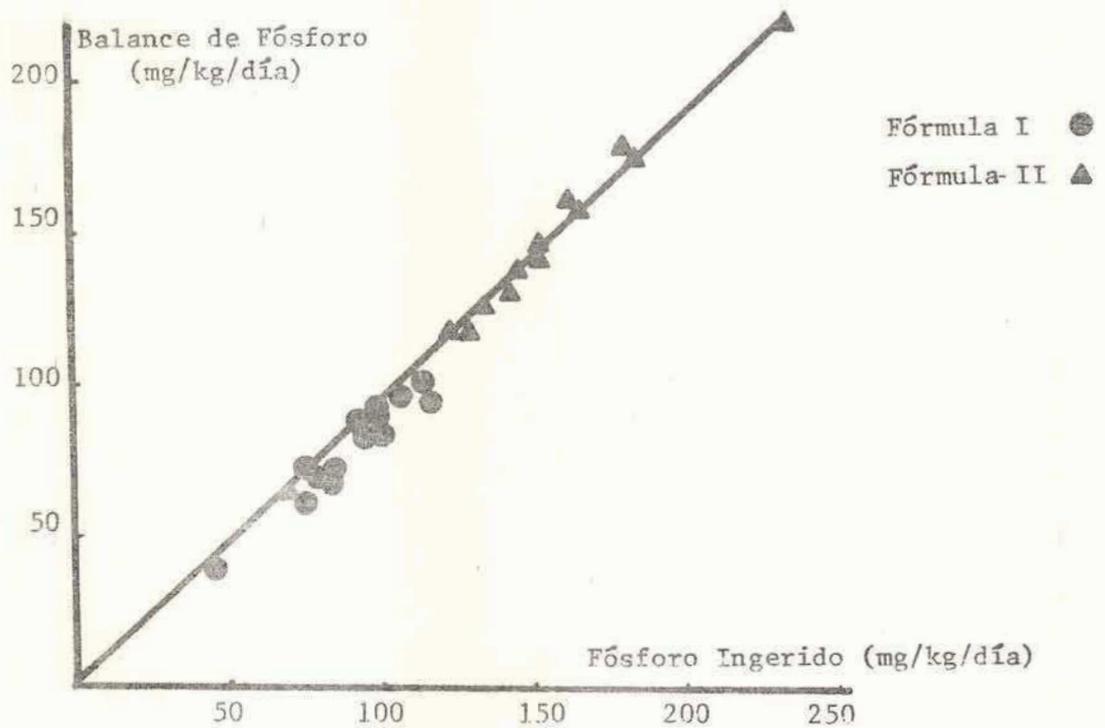


Figura 38 b.

detalla en las siguientes ecuaciones (Tablas 17 y 18).

$$BCa = -37.5 + 0.86 ICa; \quad r=0.91$$

$$BP = 8.94 + 1.00 IP; \quad r=0.99$$

A pesar de las diferentes fuentes de Ca, de la relación Ca/Proteína, de la relación Ca/P y de la ausencia de Lactosa en la fórmula II, las absorciones de Ca y P fueron muy altas sin presentar diferencias significativas entre ambas fórmulas:

	% ABSORCION CA	% ABSORCION P
FORMULA I	61.0±17.8	95.7±3.6
FORMULA II	72.0±12.9	98.2±1.1

Cuando se graficaron los balances en función de los niveles de absorción, expresados ambos en mg/kg/día, se observó tanto para Ca como para P una correlación altamente significativa sin diferencias entre ambas fórmulas. Las ecuaciones correspondientes son las que se detallan a continuación:

$$BCa = -1.09 + 0.99 Ca A; \quad r=0.99$$

$$BP = 14.43 + 0.85 P A; \quad r=0.96$$

Esta relación altamente significativa entre las retenciones y las absorciones aparentes fue una consecuencia directa de que las excreciones urinarias de ambos nutrientes correspondieron a una fracción sumamente pequeña de la ingesta. Estos resultados pueden observarse en las tablas 17 y 18.

Los balances de Ca y P mostraron, a su vez, una correlación lineal entre ambos (figura 39):

$$BCa = 10.8 + 1.6 BP; \quad r=0.90$$

sin diferencias significativas entre las fórmulas estudiadas. La pendiente de 1.6 correspondiente a esta ecuación de regresión indicaría que se estaba produciendo una mineralización máxima (130).

T A B L A 1 7

Ca I.	Ca U mg/kg/día	Ca F	B Ca	% de Ca A.	P.I.	P.U. mg/kg/día	P.F.	B.P.	% de P A.
154.4	3.09	20.3	130.9	86.9	76.4	10.0	0.8	65.6	99.5
220.9	5.15	36.9	178.9	83.2	109.4	6.8	2.0	100.6	98.2
241.2	4.26	30.0	203.7	87.4	117.7	11.7	1.9	104.1	98.4
175.2	2.55	57.4	115.2	67.2	86.7	8.0	5.1	73.5	94.1
242.8	2.99	124.1	115.7	48.9	120.2	9.3	14.2	96.7	88.2
206.1	1.23	87.2	117.7	57.7	102.0	3.3	5.8	92.9	94.3
193.5	1.00	115.6	76.9	40.3	95.8	6.3	6.1	83.3	93.7
86.3	0.61	25.2	60.4	70.8	42.7	2.5	2.9	39.4	93.2
201.1	2.84	108.1	90.2	46.3	99.5	4.5	6.1	89.0	93.9
166.3	3.68	46.7	115.9	71.9	82.3	8.3	1.1	72.9	98.7
185.6	0.47	43.4	141.6	76.6	91.8	1.4	1.7	89.7	99.2
203.5	0.87	110.0	92.6	45.0	100.7	9.9	7.4	83.5	92.7
173.8	0.71	68.3	104.8	60.7	45.0	2.7	3.9	38.4	91.2
157.7	0.24	70.0	87.5	55.7	78.0	2.1	1.1	74.8	98.5
158.3	1.70	33.0	123.7	79.2	78.3	4.2	0.6	73.5	99.3

Datos individuales correspondientes a la Fórmula I

T A B L A 1 8

Ca I	Ca U	Ca F	B. Ca	% de ACa	P. I.	P. U.	P. F.	B. P.	% de P. A.
		mg/kg/día					mg/kg/día		
292.8	3.85	36.1	252.8	87.7	152.5	11.7	1.9	143.7	99.2
274.3	3.02	93.5	177.8	65.9	142.9	6.3	4.1	132.5	97.1
322.1	1.39	79.4	241.4	75.4	167.9	5.3	3.2	159.3	98.1
453.2	3.66	36.1	413.4	92.0	236.1	9.7	1.8	224.6	99.3
242.8	1.60	28.1	213.1	88.4	126.5	4.4	1.4	120.7	98.9
322.0	1.01	73.2	247.9	77.3	167.8	2.8	1.7	163.3	98.9
250.7	2.59	92.2	155.9	63.2	130.6	8.4	3.0	119.2	97.7
356.8	5.56	134.6	216.6	62.3	185.9	3.3	5.0	177.6	97.0
279.3	2.76	132.5	144.1	52.6	145.5	3.0	4.3	138.2	97.1
133.8	0.13	37.7	120.6	86.5	72.8	0.8	2.8	69.3	96.2
293.0	0.38	83.3	209.3	71.6	152.6	4.7	1.7	146.2	98.9
257.6	0.53	94.0	163.2	63.6	134.2	4.2	1.8	128.2	98.7
338.1	0.26	53.0	284.6	84.9	182.9	2.9	0.5	179.5	99.7
413.4	1.67	106.7	305.1	74.2	215.3	4.7	3.9	206.8	98.2

Datos individuales correspondientes a la fórmula II.

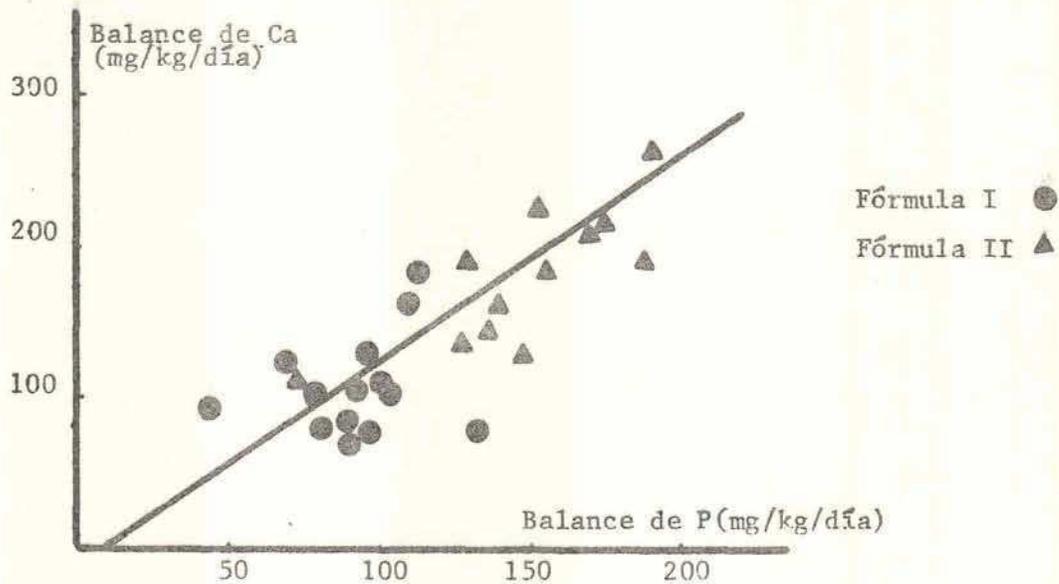


Figura 39

### 3.- INTERRELACIONES Ca/N y P/N:

Cuando se representó el BCa en función de la ganancia de peso, expresada en g/kg/día, se obtuvieron dos ecuaciones diferentes cuyas pendientes dependieron de la relación Ca/Proteína de la dieta utilizada. En cambio, cuando los datos de balance se graficaron en función del balance nitrogenado, las rectas presentaron pendientes no estadísticamente diferentes de acuerdo al Test de Paralelismo (Figuras 40 a y b; respectivamente). Las ecuaciones correspondientes, tanto para el caso del Ca como para el del P, se observan en la siguiente tabla:

FORMULA I		FORMULA II	
BCa= 75.5 + 3.2 VGP;	r=0.82	BCa= 43.7 + 12.1 VGP;	r=0.95
BCa= 30.6 + 0.203BN;	r=0.90	BCa=105.7 + 0.275BN ;	r=0.96
BP = 56.7 + 1.77VGP;	r=0.77	BP = 33.5 + 7.47VGP;	r=0.67
BP = 21.0 + 0.140BN;	r=0.91	BP = 62.6 + 0.170BN ;	r=0.81

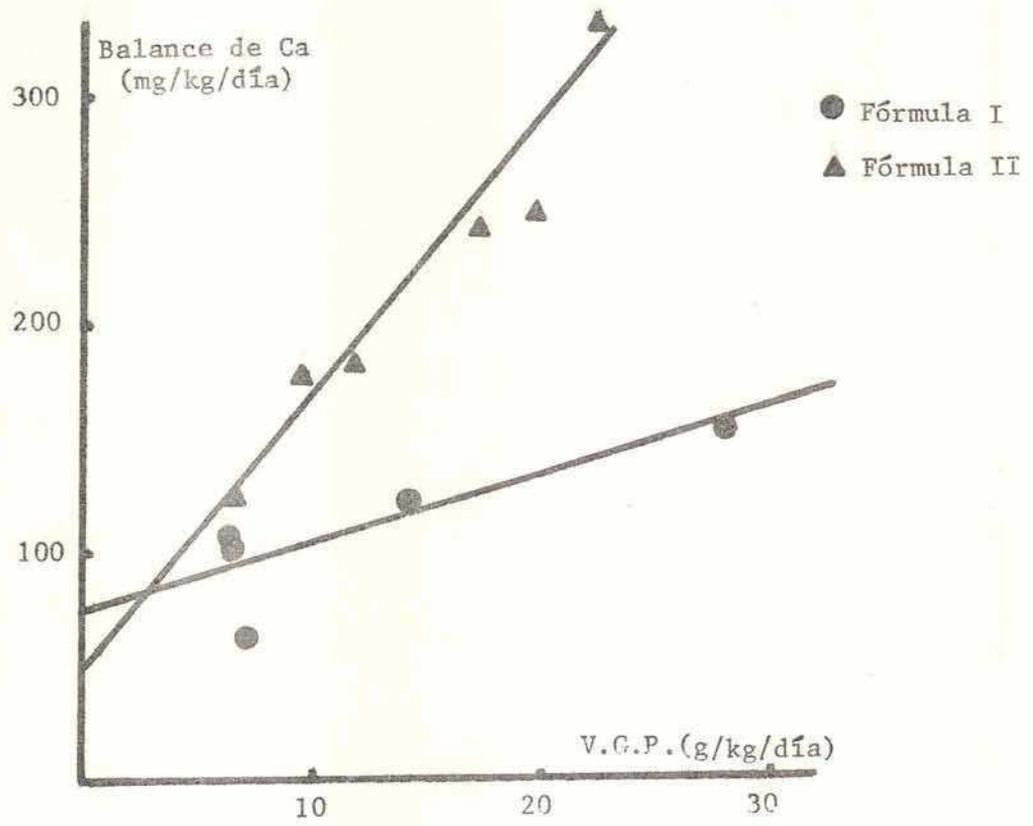


Figura 40 a.

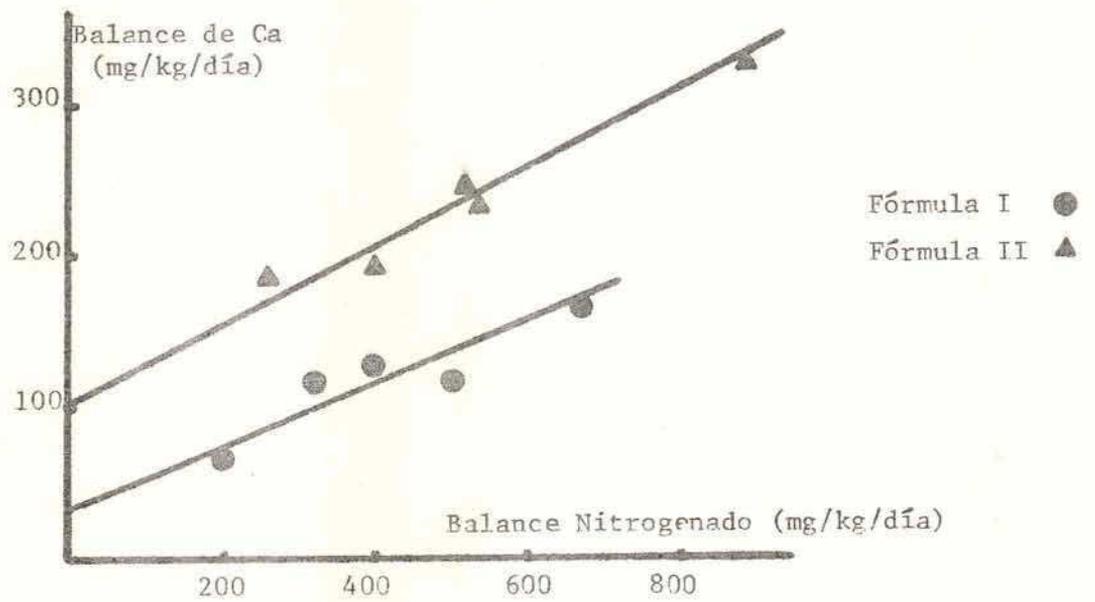


Figura 40 b.

#### 4.- INTERRELACION Ca/VITAMINA D

Para ambas fórmulas la ingesta de Vitamina D se encontró entre 80 y 160 UI/día, cifras que corresponden al rango normal para esas edades (Figura 41).

Cuando se representó el balance de Ca en función de la ingesta de Vitamina D, se obtuvieron dos rectas paralelas y que fueron estadísticamente diferentes.

$$BCa = -168.4 + 2.47 \text{ IVit D. ; } r=0.97 \quad \text{Fórmula I}$$

$$BCa = -99.3 + 2.81 \text{ IVit D. ; } r=0.97 \quad \text{Fórmula II}$$

Del análisis de las mismas resultó que, los balances de Ca alcanzaron cifras hasta 10 veces superiores a las normales con ingestas de Vitamina D dentro de rangos normales (Figura 42).

El Ca Absorbido o Retenido por UI de Vitamina D ingerida fueron los siguientes:

	FORMULA I	FORMULA II
Ca Absorbido/UI Vit D ing.	$1.07 \pm 0.33$	$1.94 \pm 0.32$
Ca Retenido/UI Vit D ing.	$1.07 \pm 0.32$	$1.94 \pm 0.31$

Se observa que los valores medios fueron mayores para la fórmula II que presentó la mayor relación Ca/Proteína

#### D I S C U S I O N

La relación entre la concentración proteica de la dieta y las velocidades de crecimiento ha sido estudiada por Bernhardt (131), quien demostró que, en mamíferos, la cantidad de calorías proteicas de la leche materna (P%) es una función inversa del tiempo necesario para que la cría duplique el peso que tenía al nacimiento. En dichas especies, la composición de la leche materna presenta una relación entre la concentración de proteínas, expresada en términos calóricos (P%) y el log de la VGP (Figura 43). La especie humana se sitúa, en dicha esca-

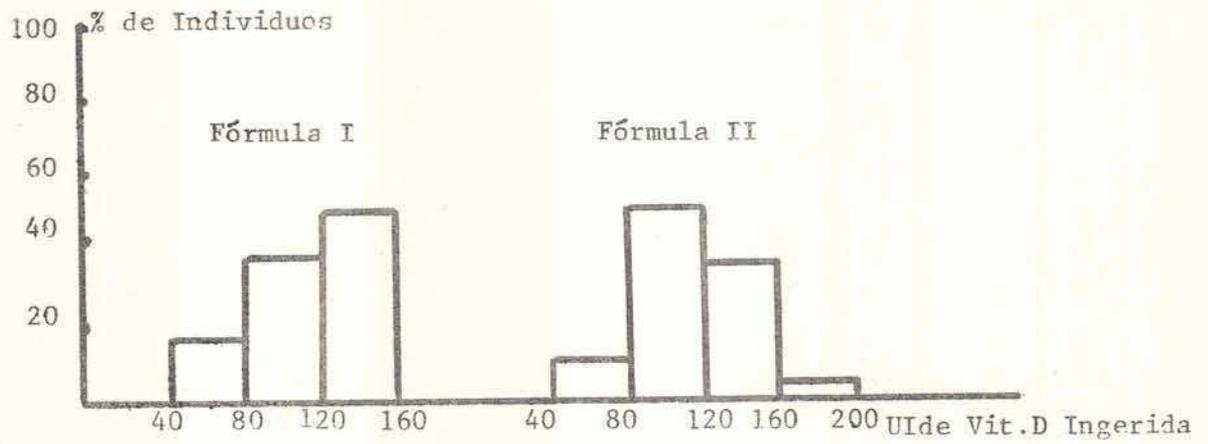


Figura 41

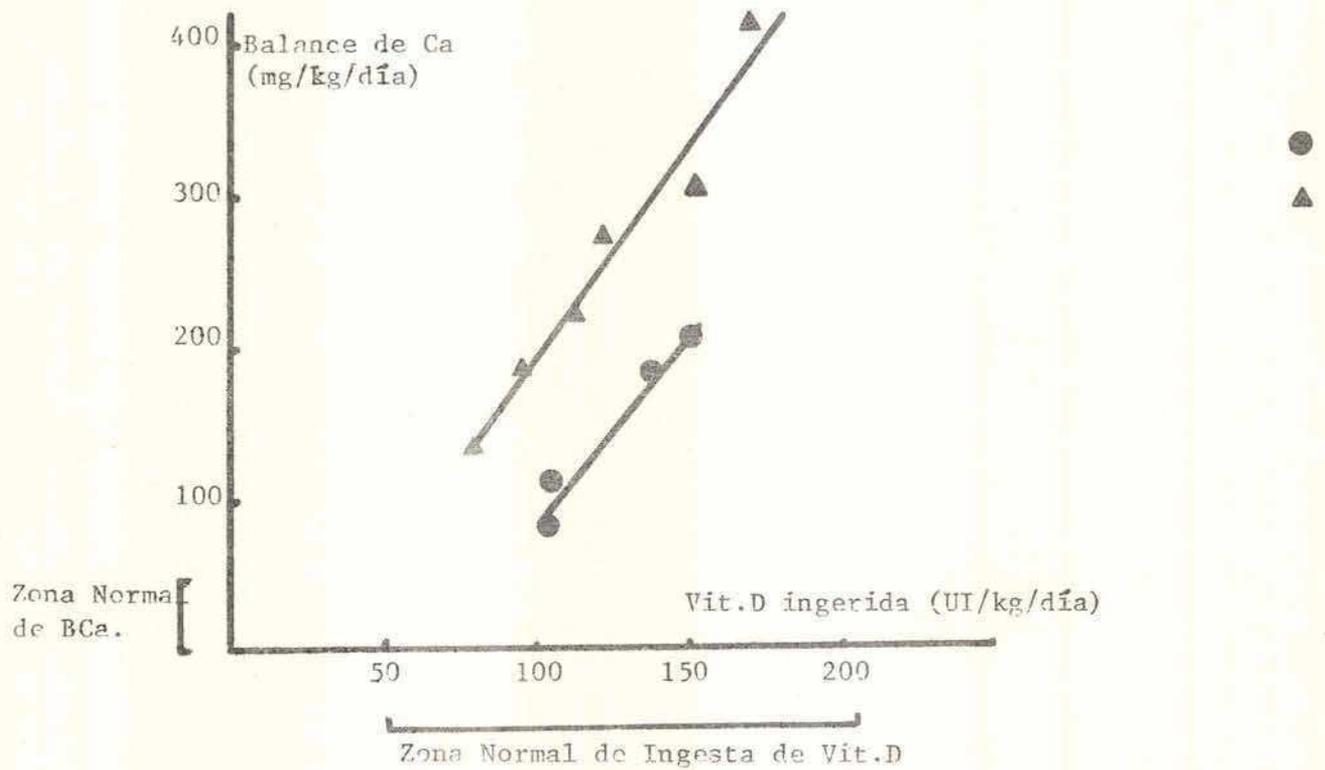
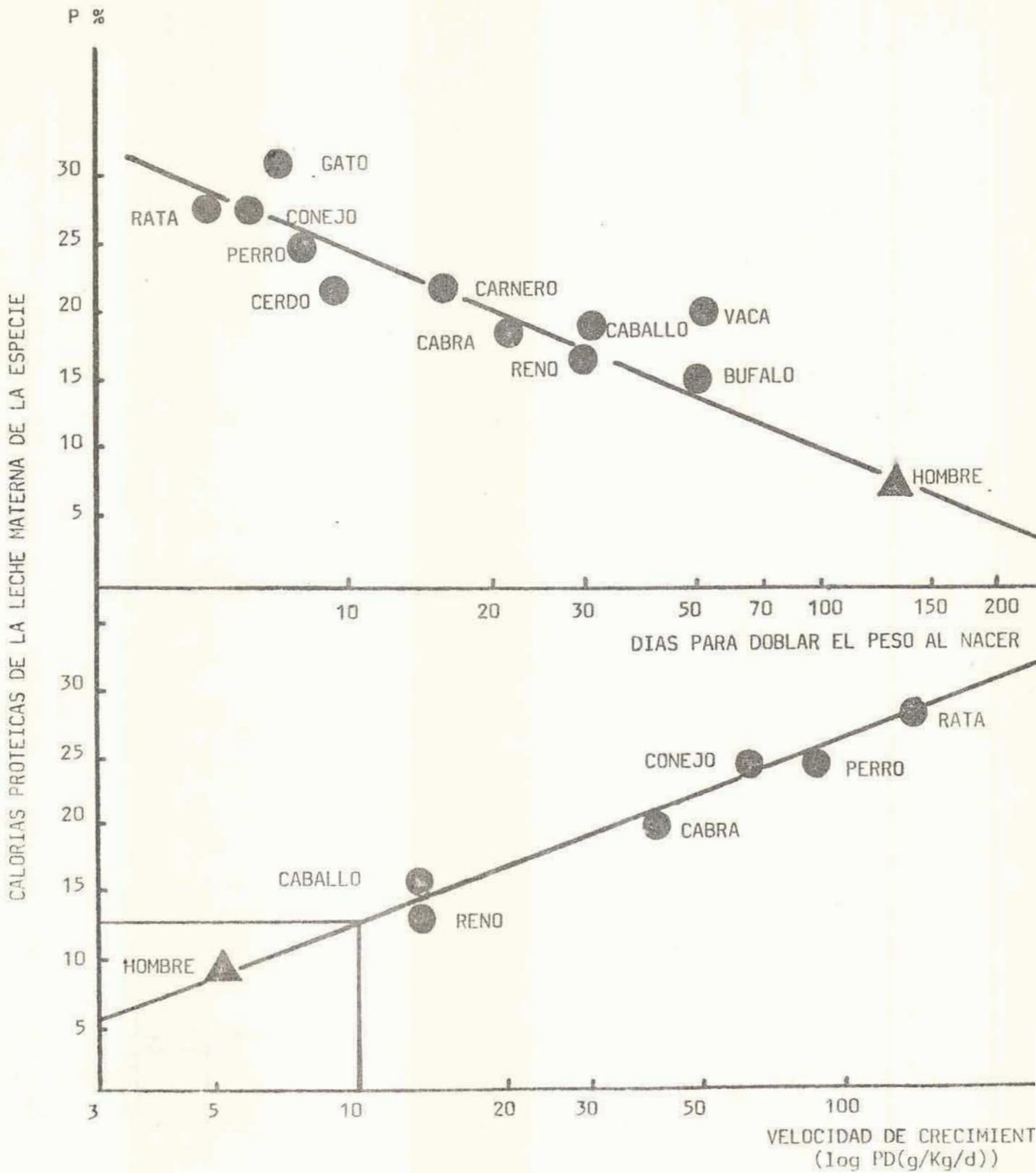


Figura 42.

Figura 43



Adaptado de Bernhart V.W. (1961).

la, en el lugar que le corresponde de acuerdo con su velocidad de crecimiento; sin embargo, durante la recuperación nutricional, existe la potencialidad de aumentar de peso a una velocidad de hasta 20 veces superior a lo esperado para la edad (132). Este hecho produce el desplazamiento hacia mayores VGP requiriéndose, por lo tanto, mayor concentración proteica en la dieta de recuperación. En nuestro estudio, la alimentación "ad libitum" con fórmulas lácteas conteniendo una concentración proteica superior a la habitualmente usada en dietas de recuperación, produjo elevadas ingestas. Esto implicó un consumo energético y nitrogenado por encima de los requerimientos (tabla 19) dando lugar a ganancias de peso varias veces superiores a las normales para niños de las mismas edades (figura 37).

Sin embargo, la calidad de una dieta de recuperación no puede medirse sólo por su capacidad para inducir aumento de peso, sino, que deberá llevar aparejada una retención nitrogenada capaz de asegurar la formación de tejido normal. En esta experiencia, la ganancia de peso presentó una correlación significativa con la retención nitrogenada, cuya pendiente de 32 mg/g de peso ganado equivale a la formación de tejido normal: en consecuencia, con estas dietas de recuperación, la ganancia de peso se realizó a expensas de nuevo tejido formado y no de retención de agua o depósito de grasa.

Esas VGP elevadas llevarán asociadas, como es lógico suponer, mayores necesidades de otros nutrientes esenciales. En el caso particular del Ca y P, para alcanzar una composición ósea normal sus retenciones deberán estar estrechamente relacionadas al rápido aumento de la masa corporal y deberán ser aún mayores cuando la desnutrición se encuentre asociada con hipomineralización del hueso.

En condiciones normales, como resultado del crecimiento se incrementa el contenido corporal de Ca (1). Sin tener en cuenta las variaciones en la velocidad de crecimiento, hasta los 2 años de edad existe una retención comprendida

Tabla 19

EDAD Meses	DIETA	ENERGIA (Cal/Kg/d)	CAL/REQ	PROTEINA (g/Kg/d)	PROT/REQ	CALCIO (mg/Kg/d)	Ca/REQ	FOSFORO (mg/Kg/d)	P/REQ
0-3	1	192	1.6	5.5	2.3	242.8	2.2	179.7	3.4
	2	259	2.5	8.7	3.6	453.2	4.1	194.9	3.7
3-6	1	161	1.4	4.8	2.6	199.9	2.6	147.9	4.0
	2	166	1.4	5.6	3.6	346.4	4.5	148.9	4.0
6-12	1	138	1.3	4.5	2.9	177.1	3.2	131.1	3.3
	2	148	1.3	4.9	3.2	307.6	5.6	132.0	3.3
12	1	121	1.2	3.5	2.7	159.7	3.5	116.2	1.6
	2	166	1.6	5.5	4.3	236.0	5.2	101.5	1.4

entre 120 y 130 mg de Ca/kg/día, que sería equivalente a 10mg/g de tejido ganado. Considerando que cada g de tejido formado implica la retención de 32 mg de N se obtendría un valor teórico de 0.32 mg de Ca por mg de N retenido. En la figura 40 b. se muestra que, cuando el balance de Ca se grafica en función del balance nitrogenado, se obtienen, para ambas fórmulas valores menores al teórico:

- \* 0.203 mg de Ca/g de tejido ganado para la Fórmula I
- \* 0.275 mg de Ca/g de tejido ganado para la Fórmula II

Estas pendientes indicarían que, de acuerdo a las elevadas retenciones nitrogenadas obtenidas, las retenciones de Ca podrían haber sido superiores a las alcanzadas en este estudio. Estos hechos explicarían los elevados coeficientes de correlación obtenidos al representar el balance en función de las ingestas (figuras 38 a y b), resultantes de no haberse logrado la meseta indicativa de que los requerimientos han sido cubiertos y que, a su vez, es una consecuencia de que las absorciones hayan sido permanentemente altas.

El hecho de que los requerimientos de Ca y P de estos niños desnutridos no hayan sido cubiertos por las dietas de realimentación utilizadas, corroboran su habilidad incrementada para absorber y retener nutrientes para satisfacer los elevados requerimientos impuestos por el rápido crecimiento producido por la concentración proteica de la dieta, además de replecionar los depósitos.

Uno de los puntos a dilucidar fue la participación que en estos hechos, y particularmente en el mantenimiento de las absorciones y retenciones elevadas de Ca, pudo haberle a la Vitamina D presente en la dieta. La figura 42 muestra que si bien los balances de Ca fueron hasta 10 veces superiores a los normales, las ingestas de Vitamina D se mantuvieron dentro de rangos fisiológicos normales. También puede observarse en el ítem 4 de la página 143, que durante la recuperación de estos niños desnutridos, las cifras de absorción o retención de Ca

por Unidad Internacional de Vitamina D ingerida se encontraron dentro de los rangos fisiológicos, si bien con valores superiores para la fórmula II. Todos estos resultados podrían explicarse sobre la base de dos hipótesis:

- 1) La recuperación nutricional no impondría un aumento en los requerimientos de Vitamina D, sino por el contrario, produciría una mayor eficiencia en la conversión de ésta en sus metabolitos activos relacionada a la concentración proteica de la dieta, o
- 2) En forma similar a lo postulado por De Luca ( 19 ) para el período de la lactancia, durante la recuperación nutricional, la absorción de Ca sería independiente de la Vitamina D.

Otro de los puntos a esclarecer es la influencia de la relación Ca/P de la dieta sobre el proceso de mineralización. Para ambos grupos, la pendiente que se obtuvo al graficar el balance de Ca en función del balance de P (figura 39) fue de 1.6 cifra que indicaría que se estaba produciendo una mineralización máxima. Estos datos concuerdan con los hallazgos previos de Draper en el sentido de que las diferentes relaciones Ca/P de la dieta no afectan la mineralización normal del esqueleto (133).

Por último, restaría analizar el efecto de la concentración proteica de la dieta sobre la eliminación urinaria de Ca. Los resultados de estos estudios concordaron con los hallazgos de otros autores en el sentido de que existe un aumento en el Ca urinario con el aumento en la ingesta proteica, sin que se encontraran diferencias significativas entre las fórmulas estudiadas:

$$\text{CaU} = -0.28 + 0.45 \text{ Ingesta Proteica}; \quad r = 0.68$$

Sin embargo, este hecho fue irrelevante desde el punto de vista de la retención cálcica, debido a que su valor alcanzó apenas el 1 al 3% de la ingesta de Ca (tabla 17).

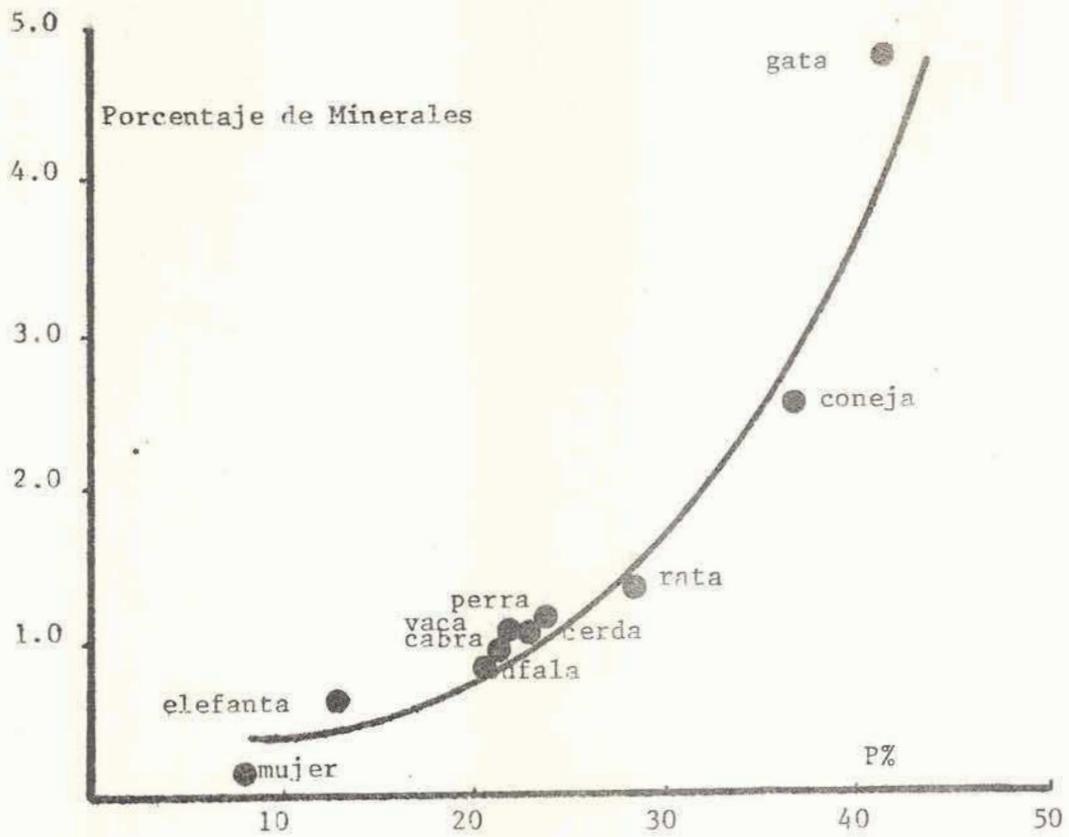


Figura 44 a.

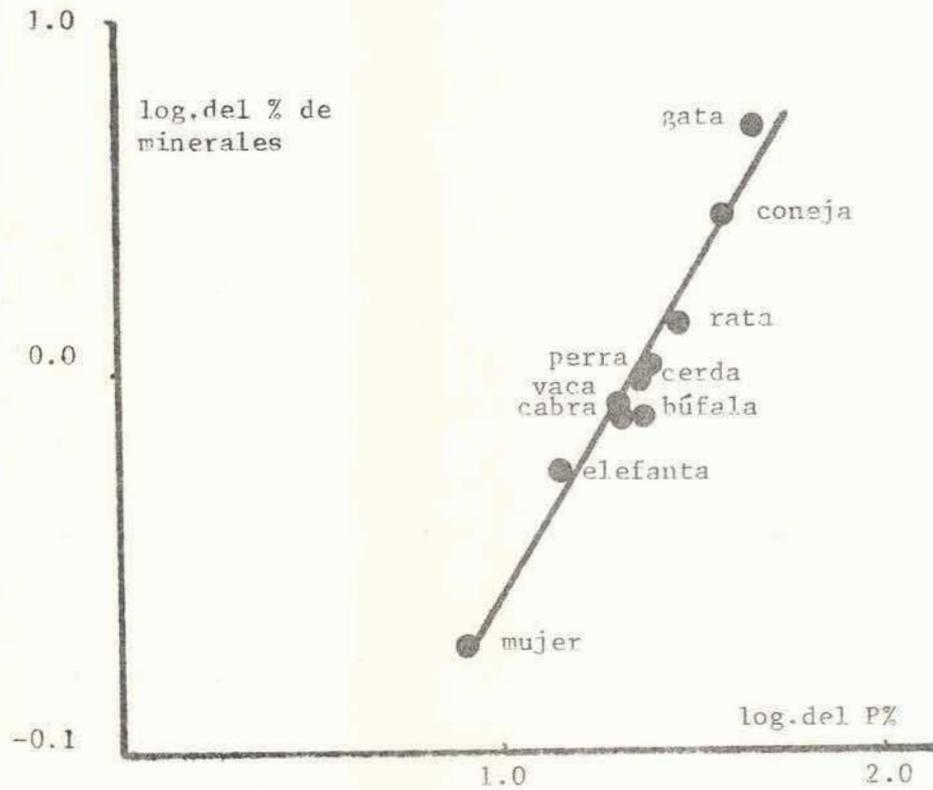


Figura 44 b.

DETERMINACION TEORICA DE LA RELACION Ca/PROTEINA O P/PROTEI-  
NA DE LAS DIETAS PARA RECUPERACION NUTRICIONAL:

Las relaciones existentes entre las necesidades de Ca, Velocidades de Crecimiento y Concentración proteica de la dieta podrían interpretarse a la luz de datos disponibles en la literatura que muestran que, cuando la concentración proteica de la leche de las distintas especies de mamíferos aumenta, simultaneamente aumenta el contenido mineral de las mismas ( 4 )(Figura 44 a y b). Entre los minerales, la concentración de P, aumenta como una función líneal de la concentración proteica de la dieta expresada en términos calóricos (P%), según la siguiente ecuación ( 4 ):

$$\text{Conc. de P} = 15.1 + 32.4P\% \quad r=0.98 \quad \text{Figura 45.}$$

En nuestro estudio, el porcentaje de absorción aparente de P no presentó diferencias significativas entre ambas fórmulas, alcanzando un valor promedio de 96%; este porcentaje tan elevado implicaría una absorción real cercana al 100%. Sobre esta base se realizó un análisis que permitió calcular, a partir de la ecuación anterior, la concentración de P teórica que correspondería a los P% de las fórmulas utilizadas (tabla 19).

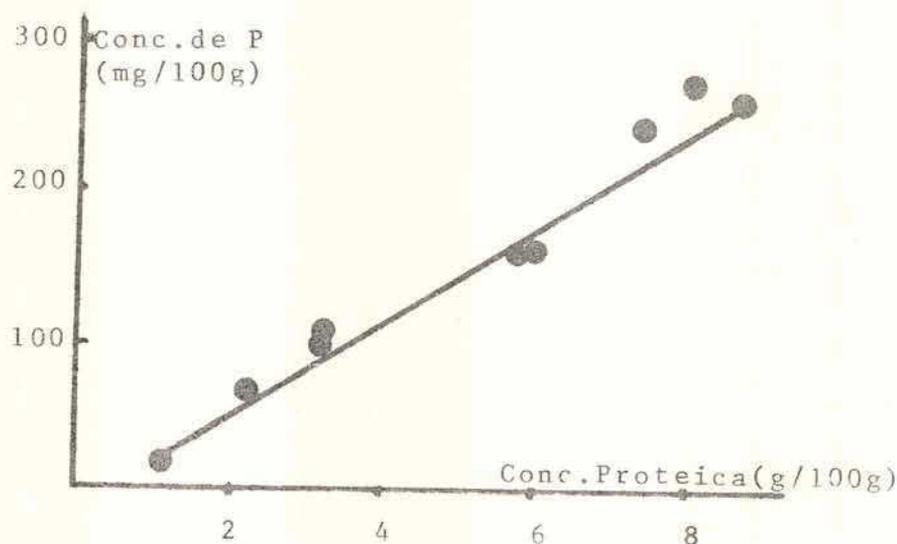


Figura 45

Mitchell, H.H. Comparative Nutrition of man and domestic animals. Academic Press, N.Y. and London, Vol. I pag. 587, 1964.

Por otra parte, considerando que la relación Ca/P de la leche humana es de 2.2, cifra con la cual se logra una óptima mineralización ósea, utilizamos el valor teórico calculado de concentración de P, para obtener la concentración ideal de Ca que deberían haber tenido estas fórmulas estudiadas:

- \* 0.966 para la Fórmula I
- \* 1.400 para la Fórmula II

Estos valores teóricos son mayores que la concentración de Ca utilizada en las fórmulas utilizadas (tabla 19). Sobre esta base, las elevadas absorciones y retenciones de Ca, así como la ausencia de la meseta en la figura 38 -a pesar de las ingestas tan elevadas de Ca- podrían explicarse como resultado de que la relación Ca/Proteína de la dieta no fue la adecuada.

CONCENTRACIONES DE CALCIO Y FOSFORO TEORICAS Y PRACTICAS

(g/100g de peso seco)

FORMULA	I	II
<u>FOSFORO</u>		
Teórica	0.439	0.633
Práctica	0.370	0.500
<u>CALCIO</u>		
Teórica	0.966	1.400
Práctica	0.500	1.170

Tabla 19

La conclusión final que puede extraerse del análisis de todos estos hechos experimentales es que, durante la recuperación nutricional, y para satisfacer las necesidades aumentadas debidas al acelerado crecimiento compensatorio producido por una adecuada relación Proteínas/Energía, los niveles de Ca y P de la dieta deberán estar íntimamente relacionados a aquella.

## C O N C L U S I O N E S

Las conclusiones generales que pueden extraerse del presente trabajo son las que se enumeran a continuación:

- 1<sup>o</sup>.- En ratas, durante el período de crecimiento, la adecuación proteica de la dieta es condicionante del desarrollo corporal y, en particular, del crecimiento de los huesos largos. Por otra parte, la densidad ósea no es alterada por la concentración proteica de la dieta.
- 2<sup>o</sup>.- La deficiencia proteica no produce resorción osteoclástica aumentada, sino que los trastornos en la mineralización que ella provoca, son de tipo osteoporótico, o sea, disminución de la masa de hueso normalmente mineralizado. Este hecho es posiblemente producto del efecto inhibitorio sobre la síntesis de materia orgánica de Colágeno como consecuencia de un incorrecto aporte de proteínas, y estaría confirmado por los niveles plasmáticos normales de PTH.
- 3<sup>o</sup>.- La relación Ca/Proteína de la dieta de recuperación es fundamental para que se produzca un crecimiento y una mineralización normal. Esto fue comprobado en ratas; cuando la relación Ca/Proteína es tan baja como 0.02 (dieta hiperproteica), aunque la concentración de proteínas sea elevada se produce un mayor depósito de materia orgánica y disminuye la relación Ca/P del fémur, dando lugar a una alteración de la mineralización ósea, que no se corrige ni aún durante el período de crecimiento lento. Este efecto se debería a una deficiencia relativa en el aporte de Ca, confirmando que sus requerimientos aumentan con la concentración proteica de la dieta. En humanos, se pudo confirmar la importancia de la relación Ca/Proteína de las dietas de recuperación; los requerimientos de Ca no fueron cubiertos debido a que la

relación Ca/Proteína de las dietas fue inferior al valor teórico calculado a través de las interrelaciones encontradas entre:

- \* Velocidad de Ganancia Ponderal
- \* Concentración proteica de la leche de las distintas especies de mamíferos.
- \* Concentración de Ca y relación Ca/P de la leche materna.

4<sup>o</sup>.- En cuanto al efecto de la concentración proteica de la dieta sobre la retención de Ca se debe destacar que, ésta está determinada fundamentalmente por los efectos a nivel de su eliminación urinaria y absorción.

4.1 En cuanto a la eliminación urinaria de Ca se presentaron los siguientes casos: en ratas, durante el período postdestete y si los animales se encontraban en adecuación proteica, la eliminación urinaria no se vió afectada por la concentración proteica de la dieta: durante los períodos de realimentación y en los niños estudiados, si bien existió una influencia de la concentración proteica de la dieta sobre su eliminación, el valor es irrelevante -1 al 3% del Ca ingerido- de manera tal que, los cambios que a este nivel se produjeron, no afectaron la retención. Este hecho permitiría descartar a la concentración proteica de la dieta como un factor interferente con la mineralización del tejido óseo, al menos en los períodos de crecimiento. En consecuencia, los factores que afectaron la absorción son los que en definitiva afectaron la retención de Ca. Esto fue comprobado en el presente estudio, donde independientemente de la concentración proteica de la dieta, tanto en humanos como en ratas, el balance de Ca mostró una correlación altamente significativa con el Ca absorbido, con una pendiente equivalente a un ángulo de 45<sup>o</sup>.-

4.2 Tanto en humanos como en ratas la retención de Ca dependió de la velocidad de crecimiento y si bien en ratas se llegó a cubrir los requerimientos de Ca, esto no

fue posible en los niños desnutridos. Estos hallazgos, junto al hecho de que en los niños la absorción de Ca permaneció constantemente alta, y similar a la de las ratas durante el período de máxima velocidad de crecimiento, nos llevaría a concluir que la concentración proteica de la dieta no afectaría específicamente a la absorción de Ca sino indirectamente a través de la VGP del individuo. Por el contrario -y apoyando las conclusiones de otros autores- se ha visto que muy poco Ca puede absorberse si la dieta no contiene proteínas o aminoácidos.

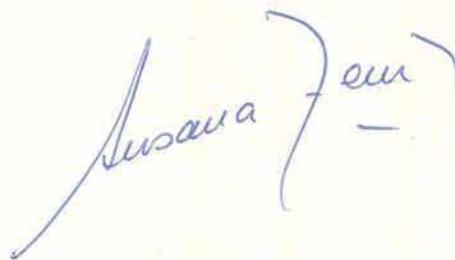
4.3 Los valores de Ca absorbido/UI de Vitamina D ingerida, tanto en humanos como en ratas, se encontraron dentro de los valores normales lo que nos llevaría a concluir que, la transformación de la Vitamina D en su metabolito activo fue suficiente como para inducir el mecanismo de absorción de Ca. Esta hipótesis es apoyada por los niveles de PTH plasmáticos dentro de rangos normales, encontrados en ratas en crecimiento.

Por otra parte, los resultados encontrados en los niños sugerirían que, durante el período de recuperación, es mucho más importante la relación Ca/Proteína de la dieta que la ingesta de Vitamina D y que, al igual que durante el período de lactancia, la absorción de Ca sería independiente de ésta.

5<sup>o</sup>.- La relación entre la longitud de los huesos largos y el peso corporal fue independiente de la concentración proteica de la dieta. La desnutrición afecta al crecimiento longitudinal del hueso. La concentración de Ca en fémur se relaciona con la retención del mismo, pero también es afectado por la VGP y la concentración proteica de la dieta. Cuando las VGP son altas, como es característico del proceso de elongación de los huesos largos, el Ca retenido se utiliza preferentemente para la mineralización de la materia orgánica preformada, sin gran

variación en la concentración de Ca en fémur. Cuando las VGP son bajas, las pequeñas cantidades de Ca retenido se utilizan, en su mayor parte, para aumentar la concentración de minerales en fémur, con el fin de alcanzar la maduración y tamaño definitivo.

Del análisis en conjunto de todos los resultados de este trabajo puede destacarse que, cuando la relación Proteína/Energía de la dieta permite una VGP adecuada, la relación Ca/Proteína es el factor determinante para alcanzar una óptima recuperación nutricional, con una composición corporal armónica.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'J. L. M.' with a large loop at the end.A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Susana' followed by a large bracket and the word 'femur'.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Hamilton, B. (1922). The Calcium and Phosphorus Metabolism of Prematurely Born Infants. *Acta Pediat.* 2, 1.
- 2.- Leitch, I. (1937). The Determination of the Calcium Requirements of Man. *Nutr. Abs. Rev.* 6, 553.
- 3.- Mitchell, H.H., Hamilton, T.S., Steggerda, F.R. and Bean, H.W. (1945). The Chemical Composition of the Adult Human Body and its Bearing on the Biochemistry of Growth. *J. Biol. Chem.* 158, 625.
- 4.- Mitchell, H.H. Comparative Nutrition of Man and Domestic Animals. Vol. I. Academic Press. N.Y.-London (1962) pg. 461.
- 5.- Wasserman, R.H. and Corradino, R.A. (1973). Vitamins and Hormones. *Advances in Research and Applications.* Academic Press N.Y.-London. 31: pg. 44-45.
- 6.- Albanese, A. Current Topics in Nutrition and Disease (1977) Bone Resorption, Vol 1. Alan R. Liss, Inc., New York pg. 27.
- 7.- Wasserman, R.H. (1981). Intestinal Absorption of Calcium and Phosphorus. *Fed. Proc.* 40, 68.
- 8.- Borle, A. Calcium and Phosphorus Metabolism. *Ann. Rev. Phys.* (1974) 36, 361.
- 9.- Avioli, L.V. (1972). Intestinal Absorption of Calcium. *Arch. Int. Med.* 129, 345.
- 10.- Wasserman, R. and Fullmer, C. (1983). Calcium Transport Protein, Calcium Absorption and Vitamin D. *Ann. Rev. Phys.* 45, 375.
- 11.- Rasmussen, H., Matsumcio, T., Fontaine, O., Goodman, D.B.P. (1982). Role of Changes in Membrane Lipid Structure in the Action of 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Fed. Proc.* 41, 72.
- 12.- Zornitzer, A.E. and Bronner, F. (1971). In situ studies of Calcium Absorption in Rats. *Am. J. Physiol.* 220 (5): 1261.
- 13.- Morrissey, R.L. and Wasserman, R.H. (1971). Calcium Absorption and Calcium Binding Protein in Chicks on Differing Ca and P Intakes. *Am. J. Physiol.* 220 (5): 1509.
- 14.- Howe, J. and Beecher, G. (1981). Effect of Dietary Protein and Phosphorus Levels on Ca and P Metabolism in the Young Fast Growing Rat. *J. Nutr.* 111: 708.

- 15.- Lee, Y., Noguchi, T. and Naito, H. (1983). Intestinal Absorption of Calcium in Rats Given Diets Containing Casein or Amino Acid Mixture: The Role of Casein Phosphopeptides. *Brit. J. Nutr.* 49, 67.
- 16.- Dokoh, S.; Donaldson, C., Marion, S., Pike, J. and Haussler, M. The Ovary: A Target Organ for 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. (1983). *Endocrinology* 112, 200.
- 17.- Feldman, S. and Christakos, S. (1983). Vitamin D-Dependent Ca-BP in Rat Brain: Biochemical and Immunocytochemical Characterization. *Endocrinology* 112, 290.
- 18.- Tanaka, Y. and DeLuca, H. (1973). The Control of 25-Hydroxyvitamin D Metabolism by Inorganic Phosphorus. *Arch. Biochem. Biophys.* 154, 566.
- 19.- DeLuca, H.F. (1980). Some New Concepts Emanating from a Study of the Metabolism and Function of Vitamin D. *Nut. Rev.* 38 (5), 169.
- 20.- Adams, P.H., Hill, L.F., Wain, D. and Taylor, C. (1974). The effects of Undernutrition and its Relief on Intestinal Ca Transport in the Rat. *Calcif. Tiss. Res.* 16, 293.
- 21.- Younoszai, M.K. and Ghishan, F.K. (1979). In vivo Intestinal Ca Transport in Infants Rats: Normal and Growth Retarded. *J. Nutr.* 109, 573.
- 22.- Linkswiler, H.M., Joyce, C.L. and Anand, C.R. (1974). Calcium Retention of Young adult males as Affected by Level of Protein and Calcium Intake. *Trans. N. York Acad. Sci (series 2)* 36, 333.
- 23.- Shenolikar, I.S. and Narasinga Rao, B.S. (1968). Influence of Dietary Protein on Calcium Metabolism in Young Rats. *Ind. J. Med. Res.* 56, 1412.
- 24.- Schofield, F.A. and Morrell, E. (1960). Calcium, Phosphorus and Magnesium. *Fed. Proc.* 19, 1014.
- 25.- White, A., Handler, P., Smith, E. and Witt Stetten, M. (1959). Principles of Biochemical 2<sup>nd</sup> Ed. Mc. Grow-Hill Book Comp. INC, N.Y. Chap. 36, pg. 807.
- 26.- Armbrecht, H.J. and Wasserman, R.H. (1976) Enhancement of Ca<sup>++</sup> Uptake by Lactose in the Rat Small Intestine *J. Nutr.*

- 106, 1265.
- 27.- Mc Bean, L.D. and Speckman, E. W. (1974). A recognition of the Interrelationship of Calcium with various Dietary Components. *Am.J.Clin.Nutr.* 27,603.
  - 28.- Wills, M.R. (1973). Intestinal Absorption of Calcium. *Lancet* 1,820.
  - 29.- Clark, I. (1969). Importance of Dietary Ca:PO<sub>4</sub> Ratios on Skeletal Ca, Mg and PO<sub>4</sub> Metabolism. *Am.J.Phys.* 217,865.
  - 30.- Morrissey, R. and Wasserman, R. (1971). Calcium Absorption and Ca-Binding-Protein in Chicks in differing Ca and P Intakes. *Am.J.Physiol.* 220, 1509.
  - 31.- Op.Cit. 7 pag.pg. 38.
  - 32.- Spencer, H., Kramer, L., Osis, D. and Norris, G. (1978) Effect of Phosphorus on the Absorption of Calcium and on the Calcium Balance in Man. *J.Nutr.* 108, 447.
  - 33.- Berlyne, G.M., Ari, J., Nord, E. and Shainkin, R. (1973) Bedouin osteomalacia due to Calcium deprivation Caused by High Phytic Acid Content of Unleavened Bread. *Am.J. Clin.Nutr.* 26, 910.
  - 34.- White, A., Handker, P., Smith, E. and DeWitt Stetten, Jr. *Principios de Bioquímica* (1978). Mc. Graw-Hill Book Company N.Y. London, 6<sup>o</sup> Ed., pag. 1226.
  - 35.- Reinhold, J.G., Ismail-Beigi, F. and Faragi, B. (1975). Fiber Phytate as Determinant of the Availability of Ca, Zn and Fe in Breadstuff. *Nutr. Rep. Int.* 12,75.
  - 36.- Spencer, H., Lewin, I., Fowler, J. and Samackson, J. (1969) Effect of Sodium Fluoride on Calcium Absorption and Balances in Man. *Am.J.Clin. Nutr.* 22,381.
  - 37.- Calcium Utilization and Requirements. *Dairy Council Digest* 44 N<sup>o</sup> 5, 1973, 25.
  - 38.- Sifri, M., Kratzer, F.H. and Norris, L.C. (1977). Lack of Effect of Ascorbic and Citric Acids on Calcium Metabolism of Chickens. *J.Nutr.* 107, 1484.
  - 39.- Op. Cit. 7 pag. 27.

- 40.- Advances. Simposio Internacional sobre Calcitonina. Hotel Libertador. Buenos Aires, 8-9 de Noviembre de 1983.
- 41.- Op.Cit. 6 pág. 30.
- 42.- Irwin, M. and Kienholz, E. (1973). A conspectus of Research on Ca requirement of Man. J.Nutr. 103 (7):1019.
- 43.- Johnson, N., Alcantara, E. and Linkswiler, H. (1970). Effect of Level of Protein Intake on Urinary and Fecal Calcium and Calcium Retention of Young Adult Males. J.Nutr. 100, 1425.
- 44.- Walker, R. and Linkswiler, H. (1972). Calcium Retention in the Adult Human Male as Affected by Protein Intake. J.Nutr. 102, 1297.
- 45.- Anand, C.R. and Linkswiler, H. (1974). Effect of Protein Intake on Calcium Balance of Young Men given 500 mg. Calcium Daily. J.Nutr. 104, 695.
- 46.- Schuette, S.A., Zemel, M.E. and Linkswiler, H. (1980). Studies on the Mechanism of Protein Induces Hypercalcemia in older Men and Women. J.Nutr. 110:305.
- 47.- High Protein Diets and Bone Homeostasis. Nutr.Rev. 39(1): 11. (1981).
- 48.- Zile, M., DeLuca, H. and Anrens, H. (1972). Vitamin A Deficiency and Urinary Ca Excretion in Rats. J.Nutr. 102, 1255.
- 49.- Op. Cit. 6 pág. 241.
- 50.- Paupe, J. Elimination Cutanée Sudorale du Calcium. (1958). C.R. Soc. Biol. 152, 424.
- 51.- Whedon, G.D. (1963). The Combined Use of Balance and Isotopic Studies in the Study of Ca Metabolism. In: Proceeding of the Sixth International Congress of Nutrition. Edinburgh. August 9-15.
- 52.- Op.Cit. 4 pág. 587.
- 53.- Bourne, G. (1976). The Biochemistry and Physiology of Bone Vol. 4 pag. 5. Ed. Bourne, G.-N.Y-London, 1976.
- 54.- Op.Cit. 53 pag. 11.
- 55.- Ramp, W.K. and Neuman, W.F. (1973). Bone Mineralization in Tissue Culture. The Calcium-Phosphate Product and Ratio. Calcif.Tiss.Res. 11, 171.

- 56.- Op. Cit. 53 pág. 28-32.
- 57.- Op. Cit. 53 pág. 39-40.
- 58.- Op. Cit. 53 pág. 238-240.
- 59.- Dietrich, J., Canalis, E., Maina, D. and Raisz, L. (1976). Hormonal Control Of Bone Collagen Synthesis in Vitro: Effects of Parathyroid Hormone and Calcitonin. *Endocrinology* 98, 943.
- 60.- Op. Cit. 53 pág. 181-185.
- 61.- Raisz, L.G. (1983). Bone Metabolism and its Hormonal Regulation. *Triangle* 22, 81.
- 62.- Raisz, L.G. (1981). Calcium Regulation. *Clin. Biochem.* 14 (5):209.
- 63.- Mundy, G.R. and Raisz, L.G. (1979). Thyrotoxicosis and Calcium Metabolism. *Miner. Elect. Metab.* 2, 285.
- 64.- Chestnut, C.H. (1981). Treatment of Postmenopausal Osteoporosis: Some Current Concepts. *Scot. Med. J.* 26, 72.
- 65.- Canalis, E.M., Hintz, R.L., Dietrich, J.W., Maina, D.M. and Raisz, L. G. (1977). Effect of Somatomedin and Growth Hormone on Bone Collagen Synthesis in Vitro. *Metabolism* 26, 1979.
- 66.- Seybeth, H.W., Raisz, L.G. and Oates, J.A. Prostaglandins and Hypercalcemic States. *Annu. Rev. Med.* 29, 23 (1978).
- 67.- Mundy, G.R., Eilon, G., Orr, W., Spiro, T.P. and Yoneda, T. (1980). Osteoclast Activating Factors: Its Role in Myeloma and Other Types of Hypercalcaemia of Malignancy. *Metab. Bone Dis. Relat. Res.* 2, 173.
- 68.- Op. Cit. 25. Chap. 36, 1232
- 69.- Recommended Dietary Allowances (1980). Dairy Council Digest vol. 51 Nº 2.
- 70.- Informe de un Grupo de Expertos FAO/OMS (1961). Necesidades de Calcio-Informe 30-Roma 1962.
- 71.- Op. Cit. 6 pág. 104.
- 72.- Op. Cit. 4 pág. 239.
- 73.- Whedon, G.D. The Combined Use of Balance and Isotopic Studies in the Study of Calcium Metabolism. In: *Proceeding of the Sixth International Congress of Nutrition*. Edin-

- burgh; F. and S. Livingstone, 1964. pág. 425-438.
- 74.- Albanese, A.A., Lorenze, E.J., Edelson, A.H., Wein, E.H. and Carroll, L. (1981). Effects of Calcium Supplements and Estrogen Replacement Therapy on Bone Loss of Postmenopausal women. *Nutr.Rep.Int.* 24, 403.
- 75.- Portela, M.L., Zeni, S.N. and Río, M.E. Correlación entre el Índice Ca/Creatinina y los datos de Encuestas Dietéticas, en adultos. VII Congreso Argentino de Nutrición-Paraná (Entre Ríos), Junio de 1980.
- 76.- Atkinson, A. Calcium and Phosphorus Requirements of Low Birth Weight Infants: a Nutritional and Endocrinological Perspective. (1983). *Nutr.Rev.* 41, 69.
- 77.- Peterlik, M. and Wasserman, R.H. (1978). Effect of Vitamin D on Transepithelial Phosphate Transport in Chick Intestine. *Am.J.Physiol.* 234 (4), E: 379
- 78.- Goodhart, R. and Shils, M. Modern Nutrition in Health and Disease. Goodhart, R. and Shils. Ed. Philadelphia, 6<sup>o</sup> Ed. (1980) pág. 307.
- 79.- Bauer, K.D. and Griminger, P. (1984). Long-term Effects of Activity, Calcium and Phosphorus on Bones and Kidneys of Female Rats. *Nutr.Rep.Int.* 29, 1029.
- 80.- Jowsey, J. and Garshou-Cohen, J. (1964) Effect of Dietary Calcium Levels on Production and Reversal of Experimental Osteoporosis in Cats. *Proc.Soc.Exp.Biol. and Med.* 116 N<sup>o</sup> 2, 437.
- 81.- Bauer, K.D. and Griminger, P. (1983). Long-term Effects of Activity and of Calcium and Phosphorus Intakes on Bones and Kidneys of Female Rats. *J.Nutr.* 113, 2111.
- 82.- Parfitt, A.M. Calcitonin in the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis. *Triangle* 22 (2,3), 91. (1983.).
- 83.- Op.Cit. 6, pág. 75.
- 84.- Op.Cit. 53 pág. 434
- 85.- Harper, A.E. Amino Acid Balance and Imbalance. (1959).  
1.- Dietary Level of Protein and Amino acid Imbalance  
*J.Nutr.* 68, 405.

- 86.- Nordin, B.E., Bluhm, M. and MacGregor, J. (1962). In vitro and in vivo studies with bone-seeking isotopes. In: Radioisotopes and Bone (McLean, F.C., LaCroix, P. and Budy, A.M., eds.) pág. 105-125, Blaxckwell Scientific Publications, Oxford.
- 87.- AOAC. Official Methods of Analysis (1965) The Kjeldahl Method. Association of Official Agricultural Chemists. Whashington, DC. US-Goverment Printing Office.
- 88.- Jones, G.R. (1967). A simple and Sensitive Procedure for the Microdetermination of Nitrogen in Biological Materials. J. Lab. Pract. 16, 1486.
- 89.- Perkin-Elmer Corp. (1971). Analytical Method for Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin-Elmer Corp. Norwalk, CT.
- 90.- Willis, J.B. (1961). Determinations of Calcium and Magnesium in Urine by Atomic Absorption Spectroscopy. Anal. Chem. 33, 556.
- 91.- Fiske, C.H. and Subbarow, Y. (1925). The Colorimetric Determination of Phosphorus. J. Biol. Chem. 66, 375.
- 92.- Lindall, A.W. (1981). New Sensitive Parathyroid Radioimmunoassays with Sequence Specific Antibodies. Ligand. Rev. Winter.
- 93.- Clark, L.C. and Thompson, H.B. (1949). Determination of Creatine and Creatinine in Urine. Anal. Chem. 21, 1218.
- 94.- Allen, R. and Shedin, M. (1979). Polyethylene Glycol as a Quantitative Fecal Marker in Human Nutrition Experiments. Am. J. Clin. Nutr. 32, 424.
- 95.- Sobal, P.R. and Rohy, F.J. The principles and practice of statistics in biological research. Biometry, W.H. Freeman and Company. San Francisco. (1969)
- 96.- Carpenter, V.J. (1953). The concept of an "appetite quotient" for the interpretation of "ad libitum" feeding experiments. J. Nutr. 51, 435.
- 97.- Gomez, F., Pamos Galvan, E., Frenk, S., Cravioto, J., Chavez, P. (1958). Mortality in second and third degree malnutrition. J. Trop. Pediat. 2, 77.

- 98.- Behar, M. (1980). La desnutrición infantil en el mundo. Arch. Arg. de Pediatría 79 N° 2, 309.
- 99.- Merritt, R.J. and Suskind, R.M. Nutritional survey of hospitalized pediatric patients. Am.J.Clin.Nutr.32, 1320, 1979.
- 100.- Morasso, M.C., Saravia Toledo, R., Rocha, A.M. Índice Creatinina/Talla como indicador de severidad en desnutrición Arch. Arg. de Pediatría 75, 208, 1975.
- 101.- Puffer, R.C. Características de la mortalidad en la niñez. Organización Panamericana de la Salud, Publicación Científica N° 262, Washington, 1973.
- 102.- Chavez, A., Martínez, C. Nutrición y Desarrollo infantil Ed. Panamericana, México, 1979 pag. 93 a 98.
- 103.- Morley, D. (1973). Pediatric Priorities in the developing world. Postgraduate Pediatric Series. Butterworths. London.
- 104.- Op. Cit. 102, pag. 52 a 63.
- 105.- Shires, P., Avioli, L., Bergfeld, M., Fallon, M., Slatopolsky, E., and Teitelbaum, S. (1980). Effects of Semistarvation on Skeletal Homeostasis. Endocrinology 107:1530.
- 106.- Jha, C., Sc., M.V., Deo, M.C. and Ramalingaswami, M.D. (1968). Bone Growth in Protein Deficiency. A study in Rhesus monkeys. Am. J. Pathol. 53 (6): 1111.
- 107.- Lee, M. and Myers, G.S. (1979). The effect of Protein-Energy Malnutrition on appositional bone growth in the rat. Experientia 35 (6): 824.
- 108.- Le Roith, D. and Pimston, B.L. (1973). Bone Metabolism and Composition in the protein-deprived Rat. Clin.Sc. 44. 305.
- 109.- Glick, P., and Rowe, D. (1981). Effects of Chronic Protein Deficiency on Skeletal Development of Young Rats. Calcif. Tissue Int. 33: 223.
- 110.- Nakamoto, T. and Miller, S.A. (1977). Effect of Protein-Energy Malnutrition on the Growth of Mandible and Long Bone in Newborn Male and Female Rats. J.Nutr. 107, 983.

- 111.- Alippi,R.M., Kofoed, J.A., Río,M.E. y Bozzini,C.(1980) Physical Changes of the Mandibule and Long Bone in Protein-Energy Malnourished young rats. Presentado a la Reunión Anual de la Int. Assoc.Dental Research. Bs.As. 27-29 de noviembre de 1980.
- 112.- Suzuki,H. and Hidetzugu Fuwa.(1975). Effects of Dietary Protein and Calcium Levels on Renal Glucose-6-Phosphatase Activity of Intact and Thyroparathyroidectomized Rats. J.Nutr. 105, 1278.
- 113.- Alippi, R.M., Barceló,A.C., Bardi,M., Friedman,S.M., Río, M.E. and Bozzini,C.E. (1984). Effect of protein free diet on growth of the skeletal units of the rat mandible. Acta Odontolog.Latinoam. 1,9.
- 114.- Dickerson, J.W, and Widdowsom,F.M. (1960). Some effects of accelerating Growth. II.Skeletal Development, Proc. Roy.Sc.Serie B 152,207.
- 115.- Stanbury,S.W. (1968) .The intestinal Absorption of Ca in normal, primary hiperparathyroidism and renal failure. In. Nutrition in Renal Disease, edited by G.M. Berlyne London, Livingston.
- 116.- Allen,L.H. and Hall,T.E. (1978). Calcium Metabolism, Intestinal Calcium-binding protein, and Bone Growth of Rats Fed High Protein Diets. J.Nutr. 108, 967.
- 117.- Sherman,H.C. (1920). Calcium Requirements of Maintenance in man. J.Biol.Chem. 44,21.
- 118.- Allen,L.H., Oddoye,E.A. and Margen,S. (1979). Protein-induced Hipercalciuria: a long term study. Am.J.Clin. Nutr. 32,741.
- 119.- James,W.P.T. (1968). Intestinal Absorption in Protein-Caloric Malnutrition. Lancet i:333.
- 120.- Shires,R., Avioli,L., Bergfeld,M., Fallom,M., Slatopolsky, E. and Teitelbaum,S.L. (1980). Effects of Semistarvation on Skeletal Homeostasis. Endocrinology 107,1530.
- 121.- Brunser,O., Reid,A., Monckeberg,F., Maccioni,A. and Contreras,I. (1968). Jejunal mucosa in infant malnutrition Am.J.Clin.Nutr. 21,976.

- 122.- Kalk, W.J. and Pimstone, B.L. (1974). Calcium-binding-protein and Vitamin D metabolism in experimental protein malnutrition. *Br. J. Nutr.* 32, 569.
- 123.- Shenolikar, I.S. (1974). Protein Nutrition and Calcium Absorption. *Nutr. Metabol.* 16, 10.
- 124.- Slobodianik, N. Datos no publicados.
- 125.- Mc Cance, R.A.; Widdowson, E.M., and Lehmann, H. (1942). The effect of protein intake on the absorption of Calcium and Magnesium. *Biochem. J.* 36, 686.
- 126.- Ariza Macías, J. Método para la evaluación del crecimiento de hombres y mujeres desde el nacimiento hasta los 20 años, para uso a nivel nacional e internacional. (1972). *Arch. Latinoameric. Nutr.* 22, 530.
- 127.- Informe de un grupo de expertos FAO/OMS (1970). Necesidades de Vitamina D. Informe Nº 452. Ginebra 1970.
- 128.- Coop, C.H., Cheney, E.A. and Stokoc, N.M. (1963). Simple and Precise micromethod for EDTA Titration of Calcium. *J. Lab. Clin. Med.* 61, 1029.
- 129.- Clark, E.P. and Collip, J.B. (1925). A study of the Tisdall Method for the Determination of Blood Serum Calcium with a suggested Modification. *J. Biol. Chem.* 63, 461.
- 130.- Bernhardt, F.W., Savini, S. and Tomarelli, K.M. (1969). Calcium and Phosphorus Requirements for Maximal Growth and Mineralization. *J. Nutr.* 98, 443.
- 131.- Bernhardt, F.W. (1961). Correlation between growth-rate of the suckling of various species and the percentage of total calories from protein in the milk. *Nature* 191, 358.
- 132.- Waterlow, J.C., A. Hill and Spady, D.W. (1976). The energy cost of catch-up growth in malnourished children. 11 European Nutrition Conference. Munich, Alemania Federal 1976.
- 133.- Draper, H.H., Ten-Lin Sie and Bergan, J.G. (1972) Osteoporosis in aged rats induced by high Phosphorus Diets. *J. Nutr.* 102, 1133.

## APENDICE

### PRESENCIA DE CALCIO EN LA NATURALEZA Y EN LOS ALIMENTOS:

El Ca se encuentra principalmente presente en la naturaleza como Fosfato, Carbonato, Tartrato, Oxalato y en los vegetales en forma de Fitatos mixtos, junto al Mg. El Fosfato Cálcico es la principal sal de Ca ingerida, ya que, es en esta forma como se presenta generalmente en los alimentos. Al pH del estómago, los Fosfatos se disuelven fácilmente y en el duodeno, las principales sales presentes, en orden creciente de solubilidad son, el  $\text{CaH}_2\text{PO}_4$  y el  $\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$ .

Los principales alimentos aportadores son:

- \* Leche y derivados.
- \* Vegetales y hortalizas de hojas verdes.
- \* Pescado, sobre todo los pequeños que se consumen con espinas y aquellos envasados en forma de conservas.
- \* El agua de bebida de ciertas regiones que debido a su dureza constituyen un importante aporte.
- \* Ciertos alimentos tales como almendras, semillas de sésamo y otros poco habituales en nuestra dieta como: Ragi (Eleusine caracana) y Quinoa (Chenopodium quinoa).
- \* Alimentos que durante su elaboración incorporan Ca: por ej. las tortillas a base de harina de maíz, tratada con agua de cal, habituales en dietas Centroamericanas.