

DETERMINACION DE CALCIO Y FOSFORO EN GANADO BOVINO DE LA SABANA DE BOGOTA

Por los doctores GERMÁN DÍAZ GARAY
Y PABLO HENAO SÁENZ *

INTRODUCCION

El calcio y el fósforo, constituyentes inorgánicos de la sangre, generalmente se consideran al tiempo ya que las alteraciones de uno, se reflejan comúnmente en disturbios del otro. Existe una relación recíproca entre estos elementos, pues la elevación de uno corresponde a la disminución del otro, y el suministro excesivo de cualquiera de los dos se refleja en el aumento de excreción del otro; sin embargo, esto no es una norma fija (7). El mantenimiento de la concentración de Ca^{++} del plasma dentro de límites estrechos es importantísimo para el funcionamiento normal del organismo, pues este ion posee efecto notable en algunos fenómenos fundamentales, aparte de los relacionados con la estructura del esqueleto y de los dientes. Así, los iones de calcio tienen entre otros los siguientes efectos: 1º) disminuyen la permeabilidad de los capilares y de la membrana celular; 2º) disminuyen la excitabilidad neuromuscular, y son necesarios para, 3º) la

contracción muscular, 4º) la transmisión normal de los impulsos nerviosos y 5º) la coagulación sanguínea. Los iones de calcio también activan algunas enzimas (2).

El calcio del plasma sanguíneo se presenta en dos formas: 1ª Difusible, principalmente ionizado, que probablemente es la forma que tiene actividad fisiológica (50 a 60 por 100 de la cantidad total), y 2ª) No difusible por estar ligado o combinado con proteínas del plasma (40 a 50 por 100). La primera forma es capaz de atravesar una membrana semipermeable artificial (celofán) y la pared capilar del organismo vivo. Normalmente ambas formas se hallan en un estado de equilibrio bastante inestable. Las proporciones de las diferentes fracciones presentes son una resultante de un equilibrio entre la proteína total y el calcio total; por tanto, cambios en la proteína plasmática debe esperarse que tengan influencia sobre la concentración del calcio difusible presente (7). Los eritrocitos no poseen calcio.

La concentración normal del calcio en el plasma está asegurada por los siguientes factores: 1º) La hormona paratiroidea moviliza calcio de los huesos a la sangre

* Profesores asociados de las Secciones de Fisiología y Anatomía de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, de la Universidad Nacional de Colombia.

en ausencia de absorción intestinal. 2º) La vitamina D aumenta la absorción de calcio en el intestino aunque también participa en la movilización del calcio de los huesos. 3º) Proteínas del plasma: su disminución puede acompañarse de baja en la concentración plasmática del calcio. 4º) El incremento notable del HPO_4 puede disminuir la concentración sérica de Ca^{++} .

El fósforo también se presenta en dos fracciones, una orgánica y otra inorgánica. Sin embargo, el fósforo orgánico está en sustancias tales como los fosfolípidos que no tienen relación tan estrecha con el fósforo inorgánico como aquella que tiene el calcio orgánico con el inorgánico o difusible. La utilización fisiológica de carbohidratos causa un ligero descenso en el fósforo sanguíneo a causa de su mayor utilización para la fosforilización necesaria en este proceso. Hay también descenso temporal del fósforo sanguíneo luego de una inyección de insulina.

La hormona paratiroidea disminuye la concentración de fósforo del suero y la acumulación de calcio en el intestino disminuye la absorción intestinal de fósforo.

La proporción óptima para la absorción de calcio y fósforo, cuando el suministro de vitamina D es adecuado, es de 1:1 (1:2 - 2:1) (2), o en el joven 1:1 y 1:2; en el adulto 1:1.5 (7).

MATERIALES Y METODOS

Para el trabajo se emplearon veintinueve vacas del hato de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional, de las razas Holstein, Pardo Suiza, Normanda, Blanco-orejinegra y Criolla, de edades que fluctuaban entre 3 y 14 años, de diferentes períodos y tiempos de lactancia unas, y se-

cas otras; los animales se encontraban en condiciones normales de salud.

Entre 8 y 9 de la mañana se extrajo sangre de la vena yugular externa de las vacas y se recogió, sin ningún anticoagulante, en tubos de ensayo de 50 c.c. Se empleó este tipo de tubo con el objeto de permitir que el suero se separara más fácilmente del coágulo, lo mismo que para facilitar la extracción de aquél sin hemólisis. A la temperatura del laboratorio los tubos se dejaron inclinados por 4 horas al cabo de las cuales se llevaron a la nevera donde permanecieron hasta el día siguiente para facilitar la total retracción del coágulo. Veinticuatro horas después de tomada la sangre se centrifugó cuidadosamente y así pudo extraerse con toda facilidad una suficiente cantidad de suero de buena calidad que se guardó en la nevera para su posterior utilización.

Listo ya el suero, se procedió, para la determinación de fósforo, a emplear el método de Fiske y SubbaRow (6) basado en lo siguiente: las proteínas de la sangre se precipitan con ácido tricloroacético; el filtrado, libre de esas sustancias, se trata con una solución ácida de molibdato que forma ácido fosfomolibdico con cualquier fosfato presente. El ácido fosfomolibdico se reduce por la adición del reactivo del ácido 1, 2, 4, aminonaftolsulfónico para producir un color azul cuya intensidad es proporcional a la cantidad de fosfato presente. El método empleado tiene la ventaja sobre el de Shinowara, Jones y Reinhart, de la estabilidad en el color de la reacción final, pues la intensidad del color cambia continuamente con el tiempo en este último método (6); en cambio, el método seguido permite una lectura normal dentro de los 5 a los 20 minutos después de terminada la reacción.

Para obtener resultados más precisos, la muestra de cada animal tanto en la determinación de fósforo como en la de calcio, se trató por duplicado. Así mismo, para cada 5 muestras (10 tubos) se preparó un "standard", y finalmente, cada muestra, lo mismo que el "standard", se leyó dos veces.

Para la lectura se empleó un espectrofotómetro Bausch & Lomb con longitud de onda de 660 milimicrones utilizando

para ello fototubo de medida y filtro infrarrojos; se calibró el aparato a ciento por ciento de transmitancia (densidad óptica cero) por medio de un "blanco" preparado de conformidad con las indicaciones del método.

Practicadas las lecturas, se procedió a determinar las cantidades de fósforo inorgánico del suero. Se encontraron los valores consignados en la Tabla número 1.

TABLA NUMERO 1

CANTIDADES DE FOSFORO EN VACAS DEL HATO DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

Nº	Nombre	Raza	Edad	mg. % de Fósforo	Preñez	Ultimo parto
1.	Florida	Pardo Suiza	8 años	9.80		6 meses
2.	Condesa	Holstein	5 años 6 m.	6.42		1 mes 10 d.
3.	Florecita	Pardo Suiza	9 años 6 m.	6.86		6 meses
4.	Galleta	Normanda	5 años	5.92		4 meses
5.	Esperanza	Holstein	11 años	4.68	2 meses	3 meses 20 d.
6.	Nigeria	Normanda	4 años	9.02		3 días
7.	Argentina	Normanda	3 años	6.88		1 día
8.	Prodigiosa	Holstein	5 años	5.48	7 meses	1 año 10 d.
9.	Coqueta	Holstein	6 años	5.28	8 meses	1 año
10.	Acuarela	Holstein	4 años	6.88		9 meses
11.	Caperuza	Holstein	6 años	4.00		9 meses
12.	Orejinegra	B.O.N.	7 años	6.36	3 meses	4 meses
13.	Dulcinea	Holstein	3 años	6.00	7 meses	1 año
14.	Adelaida	Holstein	14 años	6.00	7 meses	1 año
15.	Zulia	Holstein	6 años	5.20		7 meses
16.	Cananga	Holstein	5 años 6 m.	4.80	8 meses	1 año
17.	Nizarda	Normanda	5 años 6 m.	6.56	1 mes	4 meses
18.	Esterlina	Holstein	6 años	6.60		2 meses
19.	Martica	Holstein	10 años	7.08	1 mes	3 meses
20.	Monísima	Pardo Suiza	5 años	6.24		1 mes 10 d.
21.	Primogénita	Pardo Suiza	8 años	4.76		1 mes 8 d.
22.	Sombra	Holstein	10 años	6.52	3 meses	9 meses
23.	Mandarina	Criolla	3 años	6.12	1 mes	4 meses
24.	Dorisa	Holstein	6 años	4.52	1 mes	2 meses
25.	Mónica	Pardo Suiza	13 años	8.40	6 meses	1 año 8 m.
26.	Patriota	Holstein	12 años	10.76		3 meses
27.	Arenal	Pardo Suiza	9 años	4.96		2 meses
28.	Máscara	Pardo Suiza	4 años	6.17		2 meses
29.	Clamour	Holstein	9 años 6 m.	7.00	15 días	9 meses

Distancia en los valores hallados	4.00	—	10.76
Promedio			6.40
Desviación "standard"		±	1.54
95 % de confianza		±	3.08

Para la determinación de calcio se usó el método de Roe y Kahn (6). Se prefirió éste al de Clark - Collip, por cuanto en el segundo la dificultad de titular cada vez la solución de permanganato de potasio y la interpretación visual de los colores pueden dar lugar a datos errados. El método usado se basa en la precipitación del calcio, como fosfato tricálcico, en un filtrado de suero libre de proteínas y luego la cantidad de calcio se determina fotométricamente por un procedimiento similar al empleado para la determinación del fósforo inorgánico en la sangre, teniendo en cuenta que la solución "stan-

dard" de reserva contiene 0.517 mg. de fósforo por c. c. equivalente a 1 mg. de calcio como fosfato cálcico (6).

Para la lectura se empleó un espectrofotómetro Bausch & Lomb, con longitud de onda 660 milimicrones, utilizando para ello fototubo de medida y filtro infrarrojos; se calibró el aparato a ciento por ciento de transmitancia (densidad óptica cero) por medio de un "blanco" preparado de conformidad con las indicaciones del método.

Practicadas las lecturas, se procedió a determinar las cantidades de calcio inorgánico del suero. Se encontraron los valores consignados en la Tabla N° 2.

TABLA NUMERO 2

CANTIDADES DE CALCIO EN VACAS DEL HATO DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

Nº	Nombre	R a z a	E d a d	mg. % de Calcio	Preñez	Ultimo parto
1.	Florida	Pardo Suiza	8 años	11.97		6 meses
2.	Condesa	Holstein	4 años	12.10		1 mes 10 d.
3.	Florecita	Pardo Suiza	3 años	12.70		6 meses
4.	Galleta	Normanda	5 años	14.30		4 meses
5.	Esperanza	Holstein	6 años	13.30	2 meses	3 meses 20 d.
6.	Nigeria	Normanda	5 años 6 m.	10.30		3 días
7.	Argentina	Normanda	9 años 6 m.	11.30		1 día
8.	Prodigiosa	Holstein	5 años	12.50	7 meses	1 año 10 d.
9.	Coqueta	Holstein	11 años	12.70	8 meses	1 año
10.	Acuarela	Holstein	4 años	13.70		9 meses
11.	Caperuza	Holstein	6 años	9.70		9 meses
12.	Orejinegra	B. O N.	7 años	8.70	3 meses	4 meses
13.	Dulcinea	Holstein	3 años	9.80	7 meses	1 año
14.	Adelaida	Holstein	14 años	8.90	7 meses	1 año
15.	Zulia	Holstein	6 años	9.80		7 meses
16.	Cananga	Holstein	5 años 6 m.	9.60	8 meses	1 año
17.	Nizarda	Normanda	5 años 6 m.	10.10	1 mes	4 meses
18.	Esterlina	Holstein	6 años	9.70		2 meses
19.	Martica	Holstein	10 años	9.90	1 mes	3 meses
20.	Monísima	Pardo Suiza	5 años	9.60		1 mes 10 d.
21.	Primogénita	Pardo Suiza	8 años	7.80		1 mes 8 d.
22.	Sombra	Holstein	10 años	9.40	3 meses	9 meses

Nº	Nombre	R a z a	E d a d	mg. % de Calcio	Preñez	Ultimo parto
23.	Mandarina	Criolla	3 años	11.50	1 mes	4 meses
24.	Dorisa	Holstein	6 años	9.00	1 mes	2 meses
25.	Mónica	Pardo Suiza	13 años	10.00	6 meses	1 año 8 m.
26.	Patriota	Holstein	12 años	10.20		3 meses
27.	Arenal	Pardo Suiza	9 años	10.40		2 meses
28.	Máscara	Pardo Suiza	4 años	10.30		2 meses
29.	Glamour	Holstein	9 años 6 m.	10.10	15 Jías	9 meses

Distancia en los valores hallados	7.80	—	14.30
Promedio			10.70
Desviación "standard"		±	1.60
95 % de confianza Promedio		±	3.20

RESULTADOS

Según se puede apreciar en las Tablas números 1 y 2, fueron halladas las siguientes cifras para el calcio y el fósforo en vacas en buen estado de salud per-

tenecientes al hato de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional:

Valores máximos encontrados para el calcio	14.30	mg. %
Valores mínimos encontrados para el calcio	7.80	mg. %
Valores promedio encontrados para el calcio	10.70	mg. %
Valores máximos encontrados para el fósforo	10.76	mg. %
Valores mínimos encontrados para el fósforo	4.00	mg. %
Valores promedio encontrados para el fósforo	6.40	mg. %

Desviación "standard" para:

miligramos de calcio por cada 100 c.c. de sangre	±	1.60
miligramos de fósforo por cada 100 c.c. de sangre	±	1.54

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En la investigación practicada a través de este trabajo, se encontró para el fósforo presente en el suero sanguíneo de las vacas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, de la Universidad Nacional, la cifra de 6.40 mg. % en promedio (Tabla Nº 1) y para el calcio,

la de 10.70 mg. % en promedio (Tabla Nº 2) utilizando los métodos fotométricos de Fiske y SubbaRow (6) para el fósforo, cuyos valores se deducen a partir de una solución "standard" de fosfato monopotásico y de Roe y Kahn (6) para el calcio, el cual se deduce a partir de una so-

lución "standard" de reserva de fosfato monopotásico equivalente a 1 mg. de calcio, como fosfato cálcico (6).

Estas experiencias se realizaron durante el mes de febrero de 1966 en vacas en buen estado de salud, habiéndose encontrado que los valores de fósforo en las vacas secas fueron algo más bajos que los de las que estaban en lactancia. La diferencia se podría explicar si se tiene en cuenta que a las vacas que están en producción se les suministra residuos de cervecera muy ricos en fósforo, en cambio a las secas no.

Debe hacerse notar que para evitar errores en cuanto a la obtención de datos para la determinación de fósforo, las muestras de suero sanguíneo deben estar libres de hemólisis, puesto que los ésteres fosfóricos presentes en las células rojas quedarían en libertad, lo cual naturalmente modificaría los resultados (3).

Como fácilmente se podrá apreciar, los valores hallados se encuentran entre las cifras aceptadas universalmente como normales, de acuerdo con los datos que se transcriben:

Autor	Cantidades normales en mg. % para fósforo	Cantidades normales en mg. % para calcio
Boddie (1)	—	10 ± 2
Cornelius (3)	4 — 7	9 — 12
Dukes (4)	3 — .8	9 — 12
Ontario (8)	2 — .9	9 — 12
Smith, Jones (9)	4 — 8	—
Merck (10)	4 — 6	—
Villamil (11)	5 — 16	7.20 — 11.80

RESUMEN

En vacas del hato de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, situada en la sabana de Bogotá (2.640 metros sobre el nivel del mar, temperatura promedio de 15°C.) se encontraron va-

lores promedios para el fósforo de 6.40 mg. por 100 cc. de suero sanguíneo y de 10.70 mg. de calcio por 100 cc. de suero sanguíneo, con los métodos fotométricos de Fiske y SubbaRow y Roe y Kahn, respectivamente.

BIBLIOGRAFIA:

1. BODDIE, G. F.—*Diagnostic Methods in Veterinary Medicine*. J. B. Lippincott, Co. Philadelphia; 302; 1956.
2. CANTAROW, A.; SCHIEPARTZ, B.—*Bioquímica*. Tercera edición, Editorial Interamericana: 548, 549; 1964.
3. CORNELIUS, CH. E.; KANEKO, J. J.—*Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press. New York and London: 447, 448; 1963.
4. DUKES, H. H.—*Fisiología de los animales domésticos*. Aguilar, Madrid; 47; 1960.
5. HARPER, H. A.—*Review of Physiological Chemistry*. Lange Medical Publications California: 336, 337; 1963.
6. HAWK, OSER, SUMMERSON.—*Practical Physiological Chemistry*. Thirteenth Edition. Maple Press Co., York, PA: 630, 631, 646; 1954.

7. KLEINER, I. S. and ORTEN, J. M. — *Biochemistry*. Sixth edition. The C. V. Mosby Company, St. Louis: 592, 729; 1962.
8. Ontario Veterinary College. — *Laboratory Exercises in Physiological Chemistry*, First Book: 15; 1963.
9. SMITH, H. A. y JONES, T. C. — *Patología Veterinaria*. Uteha, México: 686; 1962.
10. *The Merck Veterinary Manual*. — Merck & Co. Inc. Rahway N. J., USA: 643; 1955.
11. VILLAMIL, J. A. — *Revista de Medicina Veterinaria*, Bogotá: XI, 81, 599; 1942.