



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTROAMERICA Y PANAMA
(INCAP)**



EFFECTO DEL CALCIO DIETETICO SOBRE LA PRESION ARTERIAL

EDUARDO SAINZ

**CENTRO DE ESTUDIOS SUPERIORES EN NUTRICION Y CIENCIAS DE ALIMENTOS
(CESNA)**

Curso de Posgrado en Bioquímica y Nutrición Humana

Guatemala, Agosto de 1982

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA

EFECTO DEL CALCIO DIETETICO SOBRE LA PRESION ARTERIAL

TESIS

POR

EDUARDO SAINZ

Presentada previo a optar al grado de

MAGISTER SCIENTIFICAE

(Maestro)

CURSO DE POSTGRADO EN BIOQUIMICA Y NUTRICION HUMANA

CENTRO DE ESTUDIOS SUPERIORES EN NUTRICION Y CIENCIAS DE ALIMENTOS

(C E S N A)

Guatemala, Agosto de 1982

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Decano	Dr. José Héctor Aguilar
Secretario	Lic. Leonel Carrillo R.
Vocal 1°	Lic. Luis Fernando Girón
Vocal 2°	Lic. Francisco Monterroso
Vocal 3°	Lic. Justo Comas Fuxet
Vocal 4°	Lic. Sergio Molina
Vocal 5°	Lic. Héctor Oliveros

COMITE INTERINSTITUCIONAL DEL CESNA

Director del CESNA

Dr. Luis Octavio Angel

**Decano de la Facultad de Ciencias
Médicas**

Dr. Mario Moreno

**Decano de la Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacia**

Dr. José Héctor Aguilar

**Decano de la Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia**

Dr. Max Ernesto Figueroa

Director de la Escuela de Nutrición

Dr. Luis Octavio Angel

**Directora del Curso de Postgrado en
Salud Pública con Enfoque en Nutri-
ción y Maternoinfantil**

Dra. América de Fernandez

**Director del Curso de Postgrado en
Bioquímica y Nutrición Humana**

Dr. Oscar Pineda

**Director del Curso de Postgrado en
Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Dr. J. Edgar Braham

Dedico esta tesis a:

Mis padres

Mi esposa

AGRADECIMIENTO

Esta tesis constituye parte del trabajo de investigación desarrollado por los Dres José Belizán y Oscar Pineda. A ellos quiero expresar mi más profundo agradecimiento por haberme incluido en su equipo de investigación. Esto me permitió acceder a un ambiente de no solo gran valor científico sino también humano. En particular, quiero agradecer al Dr Oscar Pineda por su valiosa discusión y revisión de la tesis en la etapa final de preparación.

Mi agradecimiento al Lic Rafael Flores por su orientación en el análisis estadístico.

También quiero expresar mi gratitud, por su enorme paciencia y continuo apoyo a mi esposa, Karen.

Quiero reconocer además la ayuda brindada por INCAP y en especial la División de Enseñanza, lo cual me permitió continuar mi formación profesional.

Por último, quiero agradecer a todas las demás personas que colaboraron en la realización de este trabajo. Así mismo a muchas otras, que por su compañerismo y amistad, hicieron muy agradable mi permanencia en Guatemala.

Los resultados de la presente investigación han sido presentados en las siguientes publicaciones:

1. Belizán JM, O Pineda, E Sainz, A Menendez, J Villar : Rise of blood pressure in calcium-deprived pregnant rats. Am J Obstet Gynecol 141:163-169,1981.
2. Belizán JM, O Pineda, E Sainz, A Menendez, A González, J Villar : Efectos de la ingesta de calcio sobre la tensión arterial. Archivos Latinoamericanos de Nutrición Vol XXXII 1:38-43,1982.
3. Belizán JM, J Villar, O Pineda, A González, E Sainz, G Garrera, R Sibrian Blood pressure reduction in young adults with calcium supplementation: A randomized clinical trial. (Enviado para su publicación)
4. Belizán JM, J Villar, O Pineda, I González, E Sainz : The mediating role of the Parathyroid Gland in the effect of Low Calcium Intake on Blood Pressure. (Enviado para su publicación)
5. Sainz E, JM Belizán, O Pineda, A Menendez : Elevación de la presión arterial en ratas deprivadas de calcio. XXXI Congreso Nacional de Medicina Guatemala,Febrero 1981.Resúmenes p 30
6. Belizán JM, E Sainz, O Pineda, A Menendez, A González, J Villar : Effect of calcium deprivation on blood pressure in rats. XII International Congress of Nutrition, August 1981, San Diego, California, USA. Abstracts n°515, p 92
7. Sainz E, JM Belizán, O Pineda, A González, A Menendez, J Villar : Elevación de la presión arterial en ratas privadas de calcio. (Aceptado para su publicación en Archivos Latinoamericanos de Nutrición)

INDICE

I.	INTRODUCCION	1
II.	PROPOSITO	18
III.	JUSTIFICACION	18
IV.	MATERIAL Y METODOS	19
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	31
VI.	RESUMEN	45
VII.	BIBLIOGRAFIA	46
VIII.	TABLAS Y FIGURAS	

INTRODUCCION

Estudios epidemiológicos(1,2) y en animales de laboratorio(19, 20), muestran que existe una relación inversa entre la ingesta de calcio y los niveles de presión arterial.

Estudios llevados a cabo por diversos investigadores(1,2,3,4, 5,6) han mostrado también una relación entre la "dureza" del agua que se consume con la incidencia de enfermedades cardiovasculares. La "dureza" del agua está dada por el contenido de sales que presenta, especialmente sales de calcio, habiéndose encontrado que en individuos y/o poblaciones que consumen aguas duras, la incidencia de enfermedades cardiovasculares (coronaria, cerebrovascular, hipertensión) es menor. En la ciudad de Nueva York hay sectores que son provistos con aguas duras para el consumo. Se encontró que la incidencia de enfermedades cardiovasculares entre los individuos consumidores de estas aguas era menor que la de individuos de otros sectores de la ciudad que utilizaban para su consumo agua con un contenido de sales significativamente menor(7). En diversos trabajos llevados a cabo en diferentes países se ha mostrado este tipo de relación. Uno de ellos es el realizado por Masironi y colaboradores en Nueva Guinea entre los habitantes de las aldeas ubicadas a lo largo del río Wogupmeri (4). Estas poblaciones tienen como característica la de estar muy aisladas del ambiente exterior y la de utilizar como única fuente de agua para satisfacer sus necesidades la provista por el río. Se observó, que a medida que el río se aleja de su nacimiento, el contenido de calcio de las aguas disminuye, mientras que las cifras de presión arterial de las poblaciones colindantes aumentan (Tabla 1).

Es bien conocido el hecho de que generalmente la presión arterial aumenta con la edad. Una comparación del contenido de calcio en dietas de diferentes países con los niveles de presión arterial a distintas edades, mostró una relación inversa entre la ingesta de calcio y la presión arterial(8).

Belizán y Villar(9) han investigado la posible relación entre ingesta de calcio y aparición de eclampsia o toxemia del embarazo, en la cual existe un aumento de la presión arterial, edema y proteinuria, que se manifiesta durante el último trimestre del embarazo. Se han definido como factores predisponentes de eclampsia un nivel socioeconómico bajo, una mala alimentación y un mal control prenatal (10,11). Sin embargo, en poblaciones rurales de Guatemala, donde existen todas las condiciones enumeradas, la incidencia de eclampsia es baja(12) (Tabla 2).

Las mujeres de estas poblaciones de nivel socioeconómico bajo, consumen dietas deficientes en calorías, proteínas y vitaminas, a lo

que se suma un control prenatal escaso, es decir que estarían dadas todas las condiciones que se consideran predisponentes para la aparición de toxemia. No obstante ello, la incidencia de toxemia encontrada es una de las más bajas del mundo, siendo similar a la de países desarrollados donde no existen las condiciones enumeradas anteriormente.

Por otro lado, condiciones semejantes a las encontradas en Guatemala se observan en Colombia, donde la incidencia de toxemia es mayor (Tabla 2).

Analizando la Tabla 2, donde se muestran los valores promedios de ingesta diaria de algunos de los nutrientes de la dieta y la incidencia de pre-eclampsia y eclampsia de varios países, se puede observar que la aparición de la enfermedad es relativamente baja en países como Guatemala, EEUU y Etiopía, mientras que es mucho más alta en Colombia.

Si tomamos la ingesta de proteínas y energía, se podría pensar que éstas constituyen un factor predisponente, ya que poblaciones como la de Colombia tienen una ingesta baja y al mismo tiempo una incidencia alta de toxemia. Sin embargo, el nivel de ingesta de proteínas y energía es semejante al de la población urbana de Guatemala, donde la incidencia es baja y semejante a la de los EEUU, donde la ingesta es muy superior.

Si analizamos el contenido de calcio de las dietas, podemos observar que en aquellos países donde la ingesta diaria es mayor o igual a las recomendaciones dietéticas (600-800 mg/día), la incidencia de toxemia es baja. Sin embargo, en Colombia donde la ingesta está muy por debajo de las recomendaciones dietéticas, la aparición de toxemia es mucho más alta.

En el resto de minerales y vitaminas no se observa ninguna relación.

En Guatemala, la ingesta de calcio oscila entre 787-1320 mg/día. Esto se debe al gran contenido de calcio que contiene la tortilla de maíz (13), la que constituye la base de la alimentación diaria entre los sectores de menores recursos económicos en las áreas urbanas y más aun en individuos que viven en el ambiente rural. El alto contenido de calcio de la tortilla se debe a que previo a su elaboración, se deja al maíz en remojo en agua con cal (hidróxido de calcio) durante muchas horas con el objeto de ablandarlo y quitarle la cáscara. En promedio, el contenido de calcio de la tortilla es de 196 mg por 100 g, habiéndose establecido que el porcentaje de absorción de este tipo de calcio es semejante al calcio que contiene la leche descremada (14).

Hallazgos similares a los de Guatemala han sido informados en

Etiopía, donde el grano básico utilizado por la población de menores recursos económicos para su alimentación es el "teff". Dicho grano tiene un patrón de aminoácidos semejante al del huevo y una alta concentración de calcio y de hierro, siendo la de calcio de 110 mg por 100 g de grano (15). La ingesta de calcio de la población adulta es de alrededor de 1075 mg por día y la incidencia de eclampsia se encuentra entre las más bajas del mundo.

En la tabla 3, se encuentran listados una serie de países en orden creciente con respecto a la ingesta diaria de calcio y de incidencia de eclampsia. Se puede notar fácilmente, la existencia de dos grupos bien definidos. Por un lado, el grupo de países con ingestas de calcio entre 240-368 mg/día con una alta incidencia de eclampsia, y por el otro, el grupo de países con ingestas de calcio entre 884-1100 mg/día con una baja incidencia de eclampsia.

A la fecha, se han llevado a cabo una serie de estudios en los que se compara la ingesta dietética de calcio con la incidencia de toxemia, y se ha establecido que están inversamente relacionadas. Sin embargo, la relación puede no ser real ya que mujeres con toxemia generalmente disminuyen su ingesta dietética total (9).

Chaudhuri (16), estudió la ingesta dietética de 90 mujeres con embarazos normales y de 85 con toxemia, todas con más de 32 semanas de gestación. Encontró que las mujeres con toxemia ingirieron cantidades menores de calcio, hierro y vitaminas A, B₁ y C que las mujeres con embarazos normales.

En estudios de suplementación dietética durante el embarazo, donde el calcio ha sido uno de los nutrientes utilizados, se ha podido mostrar una menor incidencia de toxemia en mujeres suplementadas en relación a mujeres de las mismas poblaciones pero no suplementadas (17, 18). No obstante, no ha sido posible establecer que componente del suplemento usado fue el responsable del efecto observado.

Chaudhuri (17), dando un suplemento diario de una tableta de una tableta de vitaminas y minerales, que contenía 0.25 mg de fosfato de calcio y 3 g de gluconato de calcio, consiguió reducir la incidencia de toxemia de 14.6 % en el grupo no suplementado a 4.8% en el grupo suplementado.

Osofsky (18), comparó un grupo de 122 mujeres embarazadas que recibieron un suplemento proteínico-mineral dos veces por día, con un grupo de 118 mujeres embarazadas que no lo recibieron. Los grupos no diferían significativamente en parámetros tales como edad, situación socioeconómica, número de hijos, semanas de gestación, peso en la primera visita al médico y presión arterial diastólica y sistólica. Después del tratamiento, el grupo no suplementado mostró un

incremento mayor sobre los valores iniciales de presiones diastólicas y sistólicas, con respecto al grupo que recibió el suplemento. Las lecturas de presión arterial fueron más altas y hubo una incidencia de edema y albuminuria en el grupo sin suplementar. La ingesta promedio diaria de calcio en el grupo no suplementado fue de 673 mg y la del grupo suplementado de 1028 mg.

En cuanto a trabajos efectuados con animales, se ha observado que ratas alimentadas con dietas bajas en calcio muestran un aumento en sus niveles de presión arterial (19,20).

En uno de los trabajos anteriores (19), se pudo mostrar que al suplementar con calcio las dietas deficientes la presión arterial se normalizaba.

En ratas de la cepa hipertensiva espontánea (SHR), el duplicarles la ingesta de calcio, significó una disminución significativa de los niveles de presión arterial (21).

Barry (22), mostró que al aumentar el contenido de calcio de la dieta, era posible evitar la producción de hipertensión inducida por el tratamiento con sodio y deoxicorticosterona (DOCA).

METABOLISMO DEL CALCIO

El calcio se encuentra en tres formas en el fluido extracelular: iónica, unido a proteínas y formando complejos. Estas formas mantienen entre sí un equilibrio de tipo fisicoquímico (23).

Aproximadamente 45.5 % del calcio total se haya unido a proteínas, siendo albúmina la principal proteína de unión. La fracción iónica representa 47.5 %. Cinco a seis por ciento del total se encuentra formando complejos (24). Los complejos y la forma iónica constituyen la fracción difusible. La no difusible está representada por el calcio unido a proteínas. Solo el calcio que se encuentra en forma iónica tiene actividad biológica.

La homeostasis del calcio es controlada por cambios en cinco compartimentos diferentes: a) fluidos extracelulares, b) "pool" intracelular (citosol, retículo endoplásmico, mitocondria), c) hueso, d) lumen intestinal, e) fluido de túbulos renales.

La regulación del transporte entre estos compartimentos es llevado a cabo por tres hormonas: paratiroidea (PTH), calcitonina (CT) y colecalciferol (vitamina D₃).

MECANISMO DE REGULACION DE LA HOMEOSTASIS DEL CALCIO

1- HORMONA PARATIROIDEA (PTH)

La hormona paratiroidea es un polipéptido constituido por 84 aminoácidos. Se sintetiza a nivel de las glándulas paratiroides en forma de un precursor más largo de 115 aminoácidos (Pre-Pro-PTH), el que luego se convierte en un polipéptido intermediario de 90 aminoácidos (Pro-PTH), para finalmente originar PTH. Bajo esta forma es almacenada en el interior de las glándulas en gránulos o vesículas, donde después de cierto tiempo, si no ha sido secretada, se degrada (25, 26).

La concentración de calcio extracelular regula tanto la síntesis como la secreción de PTH. Se ha observado, en respuesta a una disminución de los niveles de calcio extracelular, un aumento en la captación de aminoácidos por parte de células paratiroides y un incremento en la secreción de PTH (26).

Los principales sitios de acción de PTH son: hueso, riñón e intestino. En hueso promueve la resorción ósea, es decir la liberación de calcio al incrementar la lisis de osteocitos y la actividad de osteoclastos. A nivel renal, en el túbulo proximal inhibe la reabsorción de calcio y fósforo; en el túbulo distal y colector incrementa la reabsorción de calcio pero no de fósforo. En el intestino favorece indirectamente la absorción de calcio desde el lumen. Este efec-

to es mediado por la estimulación de la síntesis de 1,25-dihidroxi colecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$).

En resumen la PTH tiene acción hipercalcémica y hipofosfatémica.

2- CALCITONINA (CT)

La calcitonina es un polipéptido de 32 aminoácidos sintetizada en las células parafoliculares o células C de la glándula tiroides. Su secreción es estimulada por un aumento en la concentración de calcio en el plasma (25).

Su efecto más importante es el de inhibir la resorción ósea, impidiendo así el movimiento de calcio al plasma. Por lo tanto es antagonista de la acción de PTH en hueso.

Se ha propuesto además, que calcitonina es capaz de inhibir la 1-alfa hidroxilasa renal, por lo que impide la síntesis del 1,25-dihidroxicolecalciferol, y como consecuencia de esto se limita la absorción de calcio.

También induce un aumento en la excreción de calcio y fósforo por orina.

3- COLECALCIFEROL (Vitamina D_3)

Se produce en su mayor parte a nivel de la piel por irradiación ultravioleta, a partir de un precursor previtamina D_3 (27). Desde el sitio de producción es transportada unida a una proteína hasta el hígado, donde sufre una primera hidroxilación en posición 25. Se origina entonces 25-hidroxicolecalciferol (25 OH D_3), que es el mayor metabolito circulante. En concentraciones fisiológicas, este metabolito al igual que la vitamina D, es incapaz de estimular el transporte de calcio intestinal o la movilización de calcio de los huesos (27).

A partir del trabajo de Boyle (28), se introdujo el concepto de que el metabolismo de 25-OH D_3 está regulado por los niveles de calcio sérico. Bajo condiciones de hipocalcemia 25-OH D_3 se metaboliza en el riñón a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que es el metabolito de más potente actividad biológica. De esta manera, se estimula grandemente la absorción de calcio a nivel intestinal y la resorción ósea, con el objeto de restablecer la calcemia normal.

Bajo condiciones de normocalcemia o de hipercalcemia se favorece la hidroxilación en posición 24, originándose $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ que tiene muy poca actividad biológica (28).

Por otra parte, en situaciones de hipocalcemia leve se estimula la hidroxilación en la posición 1 de $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, formándose $1,24,25\text{-(OH)}_3\text{D}_3$ el cual puede estimular la absorción de calcio a nivel

intestinal (28).

Ratas tiro-paratiroidectomizadas mantenidas con una dieta baja en calcio, son incapaces de producir $1,25-(OH)_2D_3$, por lo que se piensa que es necesaria la presencia de PTH para estimular la 1-alfa hidroxilasa renal (26).

La acción de $1,25-(OH)_2D_3$ sobre la absorción de calcio a nivel intestinal es independiente de la presencia de PTH. No ocurre lo mismo a nivel óseo, donde no se ha podido demostrar efecto alguno de $1,25-(OH)_2D_3$ en ausencia de PTH (26).

A nivel intestinal y en respuesta a la acción de $1,25-(OH)_2D_3$, se ha detectado síntesis de por lo menos una proteína, la cual se ha identificado y denominado proteína ligadora de calcio (CaBP) (26). Aunque la cantidad de CaBP está en relación con la cantidad de calcio transportado al interior de la célula mucosa, existen evidencias que hacen pensar que su función no es precisamente la de transportar calcio desde el lumen intestinal al interior de la célula de la mucosa. La principal razón para pensar así, es que aparece en el intestino después de que la respuesta de transporte ha comenzado y permanece en el intestino después de que la respuesta de transporte ha terminado. Es por ello que la función específica que se le atribuye, es la de transporte intracelular de calcio, es decir el traslado de calcio de la parte mucosa a la parte serosa de la célula. A raíz de esta evidencia se ha tratado de identificar algún otro factor que pueda ser inducido por $1,25-(OH)_2D_3$ y que se encargue del transporte de calcio desde el lumen al interior de la célula. Dicha función podría ser llevada a cabo por una ATPasa dependiente de calcio o una fosfatasa alcalina (26).

METABOLISMO DEL CALCIO EN EL EMBARAZO NORMAL

Durante el embarazo, ocurren una serie de cambios que, de alguna manera, modifican los mecanismos encargados de mantener los niveles de calcio plasmático. Estos son: la expansión del volumen plasmático el aumento de la filtración glomerular y transferencia de calcio de la madre al feto.

Los niveles de calcio total sérico declinan progresivamente a medida que progresa el embarazo. Permanecen bajos durante el puerperio temprano, para luego subir a los niveles de preembarazo alrededor de la sexta semana de producido el parto (29). En cuanto a los niveles de calcio iónico sérico, no parecen producirse mayores modificaciones. La caída del calcio total plasmático observada, se debe a la reducción de la fracción de calcio ligado a proteínas, ya que paralelamente a la disminución de los niveles de calcio plasmático se produce una disminución en los niveles de albúmina.

La concentración de PTH tiende a incrementarse a medida que el embarazo transcurre. En parte, esto puede deberse al aumento en la concentración de estrógenos los cuales inhiben la resorción ósea.

Los niveles de calcitonina no tiene un patrón definido. Frecuentemente muestran un aumento progresivo hasta alcanzar un máximo al final del segundo trimestre de embarazo, seguido hasta una disminución hasta valores más bajos de los basales en el tercer trimestre.

FUNCION DEL CALCIO EN LA CONTRACCION MUSCULAR

La idea de que iones de calcio juegan un rol importante en la contracción-relajación muscular no es nueva. En 1883 Ringer demostró que un corazón aislado de rana no podía contraerse y permanecía relajado, cuando no había calcio en el fluido de perfusión. Se ha avanzado muchísimo desde estas primeras observaciones, pero todavía quedan en la oscuridad ciertos aspectos relacionados con el mecanismo de la contracción.

La contracción muscular involucra la transducción de energía química en trabajo mecánico. La demostración de que miosina, una de las principales proteínas del músculo, posee actividad de ATPasa, sugirió inmediatamente un posible mecanismo para la generación de energía química por la hidrólisis de ATP. No fue sino hasta 1962 que se demostró que ATP era la fuente de energía para la contracción (30)

La actividad de ATPasa de la miosina se caracteriza en que es estimulada por iones calcio y es inhibida por iones magnesio.

El músculo esquelético en estado de relajación posee en su sarcoplasma una elevada concentración de MgATP, mientras que la concentración de calcio iónico está por debajo del umbral requerido para la iniciación de la contracción. Cuando la concentración de calcio aumenta y alcanza el nivel necesario para estimular la hidrólisis de ATP, se produce la contracción muscular (31).

En cuanto al mecanismo íntimo de la contracción, se ha sugerido que ya sea por el aumento en la concentración de calcio del sarcoplasma o por el aumento en la concentración de iones hidrógeno (H^+) resultante de la hidrólisis de ATP, se induce un cambio de conformación en la molécula de troponina. Esto permite la unión de la actina a la miosina. La miosina experimenta entonces un cambio de conformación, lo cual produce el deslizamiento del filamento delgado a lo largo del grueso y que es responsable de la contracción (32).

La relajación muscular se produce al disminuir la concentración de calcio del citoplasma.

REGULACION DE LA CONCENTRACION DE CALCIO CITOPLASMATICO

Entre los sistemas que participan en la regulación de la concentración de calcio intracelular se encuentran: retículo sarcoplásmico (RS), mitocondria, membrana celular o plasmolema y una serie de proteínas con gran afinidad para ligar calcio como calmodulina, calsecuestrina, calciforina.

La participación e importancia relativa de cada uno de ellos depende del tipo de célula muscular que se considere. En células de músculo esquelético, donde el retículo sarcoplásmico ha alcanzado

un gran desarrollo y especialización, puede proveer todo el calcio que se necesita para la contracción muscular. El fenómeno de liberación de calcio es iniciado por un impulso nervioso que altera la permeabilidad de la membrana del retículo sarcoplásmico (33).

En células de músculo cardíaco o de músculo liso vascular, en las cuales no se observa el grado de desarrollo alcanzado por el retículo sarcoplásmico en células de músculo esquelético, es necesario para que la contracción tenga lugar del influjo de calcio del medio extracelular y la traslocación de calcio de otros componentes intracelulares (34,35).

RETICULO SARCOPLASMICO (RS)

La traslocación de calcio a través de la membrana del RS es un proceso que requiere energía, la cual se considera es aportada por la hidrólisis de ATP mediada por una ATPasa dependiente de calcio.

Como componente de la membrana del RS se ha identificado una proteína con actividad de ATPasa, que en el músculo esquelético puede llegar a representar hasta 90 % del total de proteínas. La ATPasa es una proteína intrínseca, es decir que penetra en la fase lipídica de la membrana, aunque parte de su estructura polipeptídica está expuesta a la superficie externa de la membrana (36).

Se han identificado además otras proteínas en la estructura de la membrana: calsecuestrina, una proteína ligadora de calcio de alta afinidad y un proteolípido (36).

La ATPasa ha sido propuesta como la molécula transportadora en el proceso de traslocación de iones calcio. El proteolípido está incluido totalmente en la bicapa lipídica de la membrana. En experimentos de reconstitución de membranas, su inclusión introdujo mayor eficiencia en el transporte de calcio (36).

La calsecuestrina y la proteína ligadora de calcio de alta afinidad, son proteínas extrínsecas débilmente unidas a la membrana. Como no son esenciales para reconstituir el transporte activo de calcio, se piensa que su función es la de ligar iones calcio, haciéndolos de esta manera biológicamente inactivos (36).

En ausencia de ATP, la membrana del RS es prácticamente impermeable al paso de iones calcio, quedando la mayor parte de los mismos unidos a la membrana. En estas condiciones las proteínas ligadoras de calcio podrían cumplir un papel fundamental en la regulación del calcio citoplasmático (36).

En el RS del músculo cardíaco se ha identificado fosfolamban, como otra proteína integrante de la membrana. Dicha proteína es fosforilada por una proteína quinasa dependiente de AMP cíclico (cAMP), siendo de esta manera capaz de estimular la captación de calcio al

incrementar la actividad de la ATPasa (36).

MITOCONDRIA

Las mitocondria constituyen otro de los sistemas capaces de regular los niveles citoplasmáticos de calcio libre. En mitocondria aisladas de diferentes tejidos y especies, se ha probado la acumulación de calcio del medio que la rodea durante un proceso energético acoplado a la respiración (37, 38, 39, 40).

Según Fiskun y Lehninger (39), durante la respiración hay un flujo de H^+ hacia el exterior de las mitocondria, quedando por lo tanto el interior de la membrana con un potencial de carga negativo. En respuesta a esto, el Ca^{2+} sería transportado hacia el interior a través de un sistema de transporte específico para calcio, exhibiendo dicho sistema una cinética de saturación que puede ser selectivamente inhibida. El ingreso de un ion calcio estaría balanceado eléctricamente por la salida de dos iones hidrógeno.

In vitro, mitocondria de tejido animal es capaz de captar calcio hasta que la concentración del mismo en el medio sea de la magnitud observada normalmente en el citosol.

La salida de calcio de las mitocondria se realiza principalmente a través de un sistema independiente del de entrada, que no necesita de una disminución en el potencial eléctrico para su funcionamiento. Esto refuerza la hipótesis de que la concentración de calcio libre en el citosol, es al menos en parte, regulada por el mecanismo cíclico de entrada y salida de calcio de las mitocondria. Cambios en cualquiera de las actividades de los sistemas de influjo o eflujo, resultan en alteraciones en la distribución de calcio entre el citosol y las mitocondria (41).

MEMBRANA PLASMÁTICA

Al igual que otras membranas de los organismos vivos, la membrana plasmática de la célula muscular es selectivamente permeable y por lo tanto puede regular la distribución de iones calcio entre los compartimentos extra e intracelular (34).

Como la concentración de calcio en el espacio extracelular es más elevada que la del interior de la célula, se considera que el ingreso de calcio a la misma es de tipo pasivo, a favor de un gradiente de concentración. Probablemente también intervengan sistemas de intercambio del tipo Ca^{2+}/H^+ y Ca^{2+}/Na^+ (42).

La salida de calcio de la célula es por lo tanto en contra de un gradiente de concentración. Se ha identificado en la parte interna de la membrana plasmática una proteína con actividad de ATPasa, activada por iones calcio, la cual sería la encargada de la extru-

si3n de calcio, conjuntamente con un intercambiador del tipo $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (42).

CALMODULINA

Es una proteina con un peso molecular de 17,000 la cual est1 asociada a membranas de estructuras celulares y subcelulares. Se considera que constituye un receptor intracelular de iones calcio. Posee cuatro sitios de uni3n para el calcio. Debido a su m1ltiple localizaci3n en todos los tejidos, se han sugerido tambi3n m1ltiples roles. No se conoce mucho sobre su forma de acci3n. Se piensa que tanto su s3ntesis como su degradaci3n son de tipo constitutivo, por lo que probablemente su actividad este regulada por la concentraci3n de calcio (46,47).

CALCIFORINA

Es una proteina aislada de la membrana interna de las mitocondria. Su peso molecular es de 3000 y tiene dos clases de sitios de uni3n para iones calcio. Aparentemente, funciona como una proteina de transporte general para el calcio, o sea que actua tanto en el traspaso de los iones hacia el interior, como hacia el exterior de las mitocondria (48).

ETIOLOGIA DE LA HIPERTENSION ARTERIAL

Los mecanismos fisiopatológicos que pueden explicar la relación entre la ingesta de calcio y la tensión arterial no están bien definidos.

La mayoría de las formas de hipertensión están asociadas a un aumento de la resistencia vascular periférica, derivada de una mayor constricción en los vasos sanguíneos pequeños. Por lo tanto, situaciones que conduzcan a un aumento crónico en la concentración de calcio intracelular del músculo liso vascular, producen un tono muscular aumentado que podría llevar a hipertensión (49).

Se ha pensado que el incremento en la concentración intracelular de calcio, podría ser el paso común final de la mayoría de los estados hipertensivos. Es por ello, que es muy importante que los distintos componentes del sistema de regulación de los niveles de calcio intracelular, se encuentren en concentraciones precisas dentro de la célula, lo cual requiere coordinación en sus velocidades de síntesis y degradación (50).

Observaciones recientes sugieren que en respuesta a requerimientos fisiológicos, cambios en la concentración de calcio libre pueden modular la concentración de los distintos componentes encargados de su regulación (50). Cualquier anomalía que se presente, ya sea en los sistemas de incorporar calcio a través de la membrana plasmática o en los sistemas intracelulares encargados tanto de la captación como de la liberación de calcio al sarcoplasma, pueden producir un desbalance en el calcio intracelular (51).

La importancia de los depósitos de calcio intracelular durante la contracción no es la misma para todos los vasos sanguíneos, sino que depende de la ubicación de los mismos (35). Algunas fibras musculares utilizan principalmente el calcio del medio extracelular para contraerse y tiene una gran afinidad para unir y extruir calcio citoplasmático a través de la membrana plasmática. Otras, cuya dependencia del calcio extracelular para la contracción es menor, poseen un retículo sarcoplásmico más desarrollado (35). La dependencia al calcio externo durante la contracción se incrementa periféricamente, es decir que es mayor a nivel de los vasos pre y postcapilares y menor en los vasos arteriales más grandes (52).

Investigaciones realizadas con ratas de la cepa hipertensiva espontánea (SHR), han revelado que el contenido de calcio de las células musculares de los vasos sanguíneos está aumentado, lo cual está asociado a un aumento en la permeabilidad de la membrana tanto al calcio como a otros iones en general (51).

Se ha objetado que el espesor aumentado de las paredes de los vasos sanguíneos, con el consiguiente estrechamiento de la luz de

los mismos, puede contribuir al mantenimiento del estado hipertensivo crónico. Sin embargo, la hipertensión se presenta antes de que ocurra algún cambio en la pared de los vasos sanguíneos (53).

Además, en algunas formas de hipertensión renal, la presión sanguínea puede retornar a valores normales después del tratamiento, aun cuando las paredes de los vasos de todo el cuerpo permanezcan aumentadas de espesor.

Por otro lado, se ha observado que en respuesta a un agente presor como norepinefrina se produce en la célula, un aumento en el influjo y una disminución en el eflujo de iones calcio (34, 43, 44, 45). Dicha situación llevaría a un incremento en la concentración de calcio intracelular, que explicaría la vasoconstricción resultante.

Contrariamente, la respuesta a la acción de un agente vasodilatador como el isoproterenol, resulta en una disminución en el influjo de calcio a la célula, efecto que sería responsable de la relajación del músculo liso vascular (34).

En preparaciones microsomales, que representan el retículo endoplásmico liso, de arterias de ratas de la cepa hipertensiva, se ha observado una capacidad disminuida para captar iones calcio (49, 51, 54, 55), y una mayor actividad de la ATPasa. Esto reflejaría el hecho de que membranas subcelulares, tal como la del retículo endoplásmico, permitirían el flujo de iones calcio hacia el citoplasma incrementando su concentración, a pesar de que la mayor actividad de la ATPasa tendería a contrarrestarlo (49, 50).

En otro tipo de hipertensión, la inducida por administración de deoxicorticosterona (DOCA), se observó en microsomas de aorta, una disminución en su capacidad de captación de iones calcio (57).

Recientemente se ha propuesto, que un desbalance en el sistema de intercambio $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ a nivel de la membrana celular, puede ser el origen de cierto tipo de hipertensión (58). Normalmente el sodio se mueve hacia el interior de la célula a favor de su gradiente electroquímico, lo cual en parte es balanceado por la salida de iones calcio. Este mecanismo de intercambio puede operar en dirección opuesta si los gradientes iónicos son apropiados, de manera que en una situación de este tipo conduciría a un aumento en la concentración de iones calcio (59).

Otra posible vía de intervención del calcio en ciertos tipos de hipertensión, podría estar señalada por el hecho de que el calcio de la dieta es capaz de inhibir la agregación plaquetaria inducida por ácidos grasos saturados de cadena larga de la dieta (60). Estudios en poblaciones han permitido mostrar una correlación positiva entre ingesta de ácidos grasos saturados y aumento de la agregación plaquetaria. Las plaquetas al agregarse producen Tromboxano

el cual tiene un efecto presor(60).

El sistema renina-angiotensina puede también ser uno de los mecanismos involucrados en la hipertensión.

La renina es producida a nivel de las células del aparato yuxttaglomerular. Su liberación es estimulada por vasodilatación de la arteriola aferente renal y es inhibida por vasoconstricción al mismo nivel. La renina es una enzima proteolítica, que una vez liberada al torrente circulatorio actúa sobre su sustrato, angiotensinógeno, que es una alfa-2-globulina producida a nivel hepático.

La acción de renina es activar el angiotensinógeno, acortándolo a un polipéptido de 10 aminoácidos llamado angiotensina I. Otra enzima convierte angiotensina I en el octapéptido angiotensina II, el cual es un potente agente vasopresor que estimula la liberación de aldosterona.

Las células del aparato yuxttaglomerular, son derivadas, por transformación, de las células de músculo liso arteriolar, por lo que se piensa que pueden compartir algunas propiedades. Concretamente, la reducción del calcio intracelular iónico lleva a la relajación muscular y a un incremento en la liberación de renina. Contrariamente, el incremento en los niveles de calcio lleva a la contracción del músculo liso y a la inhibición de la liberación de renina (61,62).

Estos efectos han podido ser demostrados en animales de experimentación. En perros, la infusión aguda de calcio en la arteria renal suprime la liberación de renina. En ratas, se ha obtenido el mismo resultado al suministrar crónicamente una mayor cantidad de calcio(62).

Las prostaglandinas son otro tipo de compuestos que pueden estar involucrados en el establecimiento de ciertos estados hipertensivos(66,67,68,69). Forman una serie de compuestos naturales con diversas y potentes actividades biológicas. Se biosintetizan a partir de ácidos grasos poliinsaturados ("PUFA"), los cuales son oxidados por intermedio de una ciclooxigenasa (63).

Un paso clave en la liberación de prostaglandinas, es la liberación de los "PUFA" de los fosfolípidos de la membrana celular, ya que solo cuando se encuentran en forma libre puede actuar la ciclooxigenasa sobre ellos. El paso de liberación es catalizado por fosfolipasa A₂, la cual es activada por iones calcio(63,64).

La acción de prostaglandinas sobre el sistema cardiovascular depende del tipo de prostaglandinas que se considere. Prostaglandinas de la serie E (PGE), producen una disminución de la presión arterial al disminuir la resistencia periférica en los vasos sanguíneos, ya que son vasodilatadoras.

Las prostaglandinas de la serie F (PGF) tiene efectos variados

de acuerdo con la especie. En el hombre son agentes vasopresores, por lo que producen un aumento de presión arterial.

La prostaciclina (PGI_2) es vasodilatadora. Su efecto farmacológico más importante está relacionado con su capacidad de inhibir la adherencia de plaquetas al endotelio normal de los vasos sanguíneos.

El tromboxano (TxA_2) es vasoconstrictor. Su acción más importante es la de estimular la agregación plaquetaria.

Debido a los efectos opuestos que presentan los distintos tipos de prostaglandinas, se ha pensado que su acción sobre un órgano o sistema depende de la prevalencia de una sobre las otras.

PROSTAGLANDINAS EN HIPERTENSION

Se ha sugerido que la hipertensión esencial puede deberse a una inadecuada cantidad de prostaglandinas vasopresoras.

Se ha demostrado que la administración de indometacina (inhibidor de la síntesis de prostaglandinas), causa en conejos un incremento progresivo en la presión sanguínea, lo cual ha sido asociado a una reducción en la excreción urinaria de PGE (65). La administración de ácido araquidónico (precursor principal de la síntesis de prostaglandinas), produce una caída, dosis dependiente, de la presión arterial sistémica. Dicho efecto es suprimido por indometacina (66).

Entre individuos que padecen de hipertensión esencial, se ha observado un aumento en los niveles de PGF (67).

En mujeres cuyo embarazo se ha complicado con hipertensión, se han encontrado niveles de PGE marcadamente disminuidos en tejido de placenta (68). Por el contrario las concentraciones de PGF fueron significativamente más elevadas (68).

También se ha observado, que la actividad de PGI_2 se encuentra significativamente reducida en los vasos placentarios y umbilicales (69). Todo lo anterior ayuda a explicar el estado de isquemia útero-placentaria y la mayor contractibilidad uterina observada durante la pre-eclampsia.

En las ratas de la cepa hipertensiva espontánea (SHR), se ha estudiado el efecto de la administración de ácido araquidónico. La respuesta ha sido una disminución en la presión arterial sistémica, la cual puede ser replicada al inyectar PGE (70).

Compuestos antiinflamatorios como indometacina, aspirina y fenilbutazona, inhibieron los cambios inducidos por ácido araquidónico pero no los producidos por PGE (70).

Se ha demostrado una participación de prostaglandinas en la liberación de renina. Como consecuencia en el descenso en la presión sanguínea a nivel de la arteria renal, se produce estimulación, por

parte de PGI₂, de receptores a nivel de las células del aparato yuxtaglomerular con la consiguiente liberación de renina(71).

La renina restablece la presión arterial por un doble efecto: aumentando la liberación de aldosterona y promoviendo la síntesis de angiotensina II.

En cultivo de células de paratiroides, se ha observado que PGE₂ produce un incremento en los niveles de cAMP y en la liberación de PTH, el cual disminuye al aumentar la concentración de calcio extracelular(72).

Contrariamente al efecto de PGE₂, prostaglandinas F₂ α inhiben la acumulación de cAMP y la liberación de PTH. El mecanismo de esta acción es solo parcialmente independiente de iones calcio(73).

La hormona paratiroidea (PTH) puede también estar involucrada en el proceso de regulación de la concentración de calcio iónico intracelular. Se ha visto que un aumento en PTH, produce un incremento del calcio intracelular en diversos tipos de células, tales como células renales(74), óseas(75), hepáticas(76) y HeLa(77). Esto puede explicar porqué individuos con hipertiroidismo primario sin daño renal aparente, tienen una incidencia más elevada de hipertensión(78).

Las mitocondria están primariamente envueltas en el mecanismo de acción de PTH. Es aceptado que la hormona actúa uniéndose a un receptor localizado en la parte externa de la membrana plasmática, lo que conduce a dos efectos simultáneos: activación de adenilato ciclasa unida a la membrana e incremento en la captación de calcio(79).

La activación de la adenilato ciclasa aumenta la concentración intracelular de cAMP. Tanto PTH como cAMP o su derivado dibutirilo, aumentan grandemente el calcio intercambiable del "pool" mitocondrial y el eflujo de calcio de mitocondria a citoplasma(79).

Los niveles de calcio del citosol pueden actuar modulando la actividad de la adenilato ciclasa; cuando se encuentran bajos la estimulan y cuando se elevan la inhiben(80).

La falta de PTH debido a una paratiroidectomía o a la disminución de su secreción debida a un alto contenido de calcio en la dieta, ha sido capaz de inhibir el desarrollo de hipertensión arterial inducido por DOCA(81,82,83). Dosis fisiológicas de extracto de paratiroides (PTE) administradas a ratas paratiroidectomizadas, pueden restablecer los niveles normales de calcio sérico y de presión arterial(81).

En ratas paratiroidectomizadas mantenidas con niveles normales de calcio, no es posible inducir hipertensión con mineralocorticoides. Esto muestra que la presencia de PTH es necesaria en el proceso de inducción de hipertensión por este mecanismo(84).

PROPOSITO

Investigar el efecto de la ingesta dietética de calcio sobre la presión arterial y los posibles mecanismos involucrados en dicho efecto.

JUSTIFICACION

En la literatura científica universal, se encuentran publicados muchos trabajos en los que se muestra a nivel de poblaciones, una relación inversa entre la ingesta dietética de calcio y la presión arterial. El poder confirmar solamente este tipo de relación se a de gran importancia, ya que permitiría disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares en poblaciones con ingestas marginales de calcio.

La incidencia de hipertensión durante el embarazo parece también estar relacionado con la ingesta dietética de calcio. La confirmación de dicha relación sería de importancia crucial para mujeres jóvenes embarazadas, en las cuales los requerimientos de calcio están aumentados no solo por el embarazo sino también por su propio crecimiento.

MATERIALES Y METODOS

I- En animales se diseñaron experimentos para establecer:

- a) El efecto de la ingesta dietética de calcio sobre la presión arterial.
- b) El efecto de la paratiroidectomía y de la ingesta dietética de calcio sobre la presión arterial.

II-En humanos se diseñó un experimento para establecer:

- a) El efecto de la suplementación dietética con calcio sobre la presión arterial en individuos normotensos de ambos sexos.

I a) HIPOTESIS

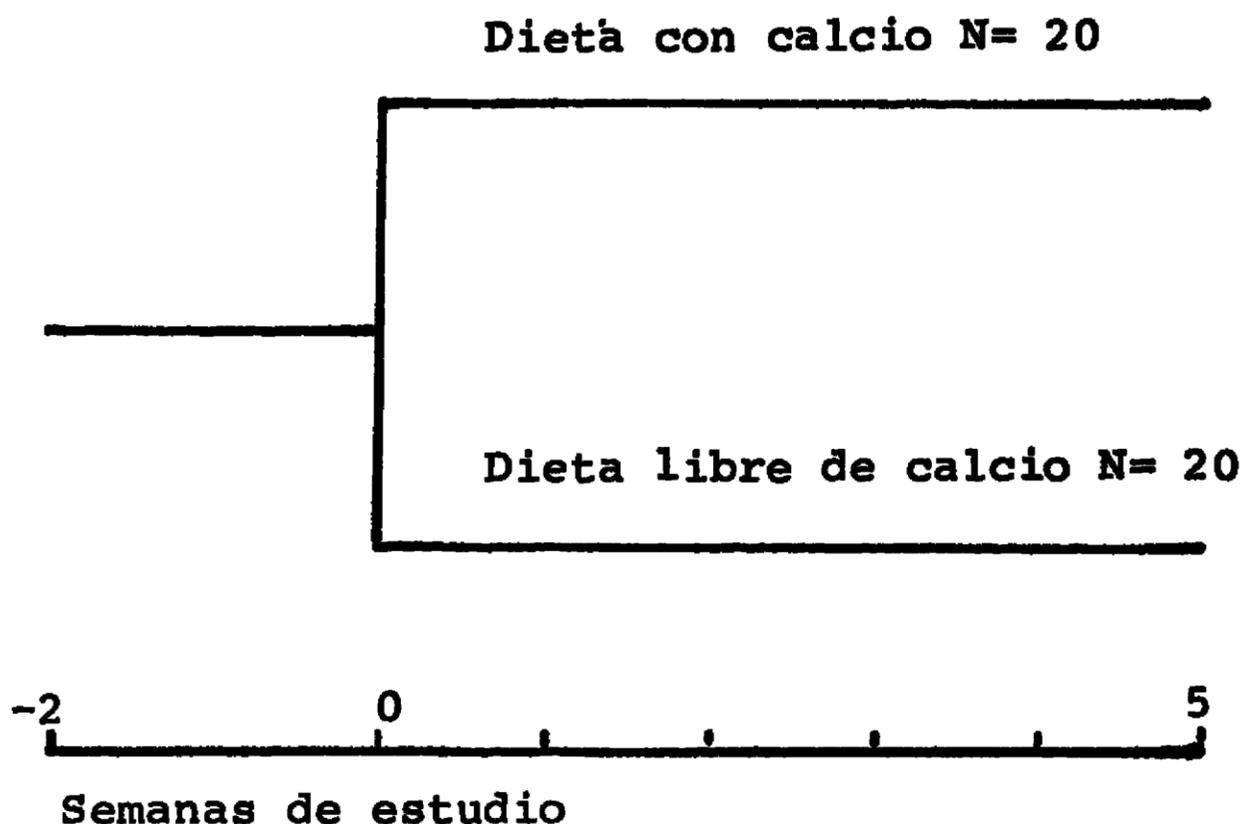
Una baja ingesta dietética de calcio produce una elevación de la presión arterial, la cual puede acentuarse durante el embarazo.

Para estudiar el efecto de la ingesta dietética de calcio sobre la presión arterial, se efectuaron dos trabajos con ratas de diferentes edades al inicio de los experimentos. Esto se hizo con el objeto de poder establecer si el mayor requerimiento de calcio de ratas jóvenes, con un crecimiento más rápido, puede influenciar el efecto de la ingesta de calcio sobre la presión arterial, ya sea en su tiempo de apareamiento o en su magnitud.

RATAS DE 90 DIAS DE EDAD

En el primer trabajo se estudiaron durante un período de cinco semanas, 40 ratas hembra de la raza Wistar de 90 días de edad, obtenidas del bioterio del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

El diseño experimental fue el siguiente:



Las ratas fueron distribuidas al azar en dos grupos de 20 ratas cada uno.

GRUPO CONTROL: las ratas de este grupo recibieron ad libitum una dieta completa que reunía todos los requerimientos en cuanto a proteínas, energía, vitaminas y minerales.

GRUPO SIN CALCIO: recibieron ad libitum una dieta similar a la anterior pero libre de calcio (Tabla 4).

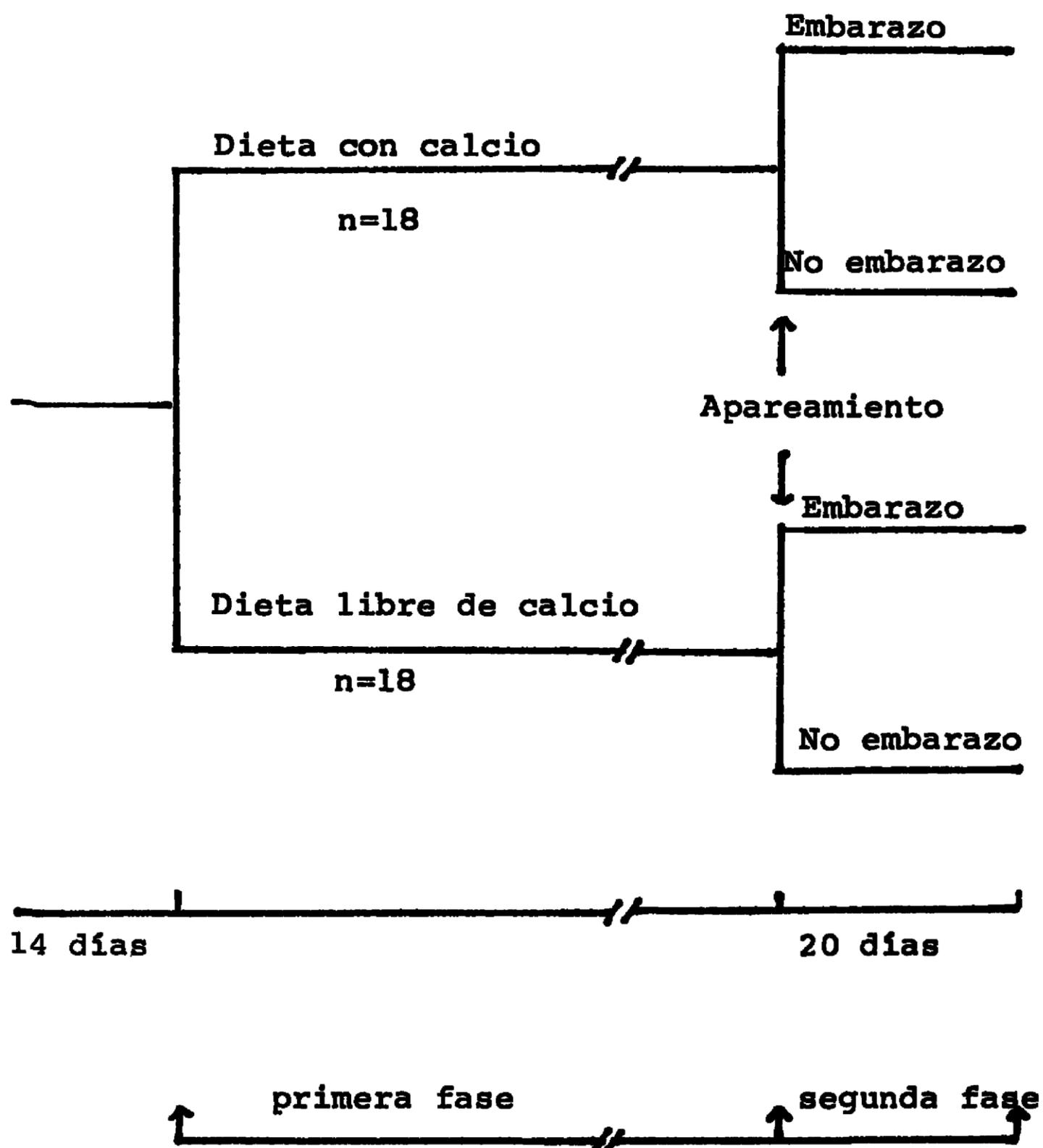
Dos semanas antes a la iniciación del estudio, se sometió a todas las ratas a tomas simuladas de presión arterial con el objeto de acostumbrarlas al manipuleo.

Las tomas de presión arterial y medición del peso se efectuaron semanalmente. Para determinaciones de calcio total, calcio iónico y proteínas totales, se recolectaron dos muestras de sangre, una el primer día de estudio (por corte de la cola) y otra al finalizar el mismo (aorta abdominal).

RATAS DE 140 DIAS DE EDAD

En el segundo trabajo se estudiaron durante 12 semanas 36 ratas hembra de la raza Wistar de 140 días de edad, obtenidas del bioterio del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

El diseño experimental fue el siguiente:



Dos semanas antes de la iniciación del estudio, se sometió a todas las ratas a tomas simuladas de presión arterial con el objeto de acostumarlas al manipuleo. Durante estas dos semanas las ratas fueron alimentadas con la dieta completa.

La iniciación del estudio estuvo marcada por la asignación al azar de las ratas a uno de dos grupos. Cada grupo estuvo integrado por 18 ratas.

GRUPO CONTROL: continuó recibiendo ad libitum la dieta completa.

GRUPO SIN CALCIO: se las alimentó ad libitum con la dieta libre de calcio (Tabla 4).

Como el objetivo de este experimento fué el de establecer en que momento el cambio de la dieta se traducía en cambios de la presión arterial, no era posible conocer a priori la duración de esta primera fase del experimento. Se decidió que una vez observado un cambio significativo en presión arterial, se continuarían las observaciones por 3 semanas más para así confirmar el fenómeno. Luego se procedería al apareamiento de las ratas para observar el efecto, si alguno, del embarazo. Las ratas fueron apareadas por un período de 24 horas, al final del cual se consideraron como preñadas todas aquellas que mostraron un frote vaginal positivo a espermatozoides. Naturalmente, puesto que este criterio no es 100 % infalible, se esperaba que un número variable de animales con frote positivo no resultara preñado.

A esta etapa los grupos estaban conformados de la siguiente manera:

GRUPO CONTROL (dieta completa) : No embarazadas (n= 13)

GRUPO CONTROL (dieta completa) : Embarazadas (n= 5)

GRUPO SIN CALCIO (dieta libre de calcio): No embarazadas (n= 10)

GRUPO SIN CALCIO (dieta libre de calcio): Embarazadas (n= 6)

A partir del día de apareamiento se inició la segunda fase del estudio, que tuvo una duración de 20 días. Las ratas tienen un tiempo medio de gestación de 21 días. En esta fase, las tomas de presión arterial y medición de peso se realizaron los días 1, 7, 14, 17, 18, 20

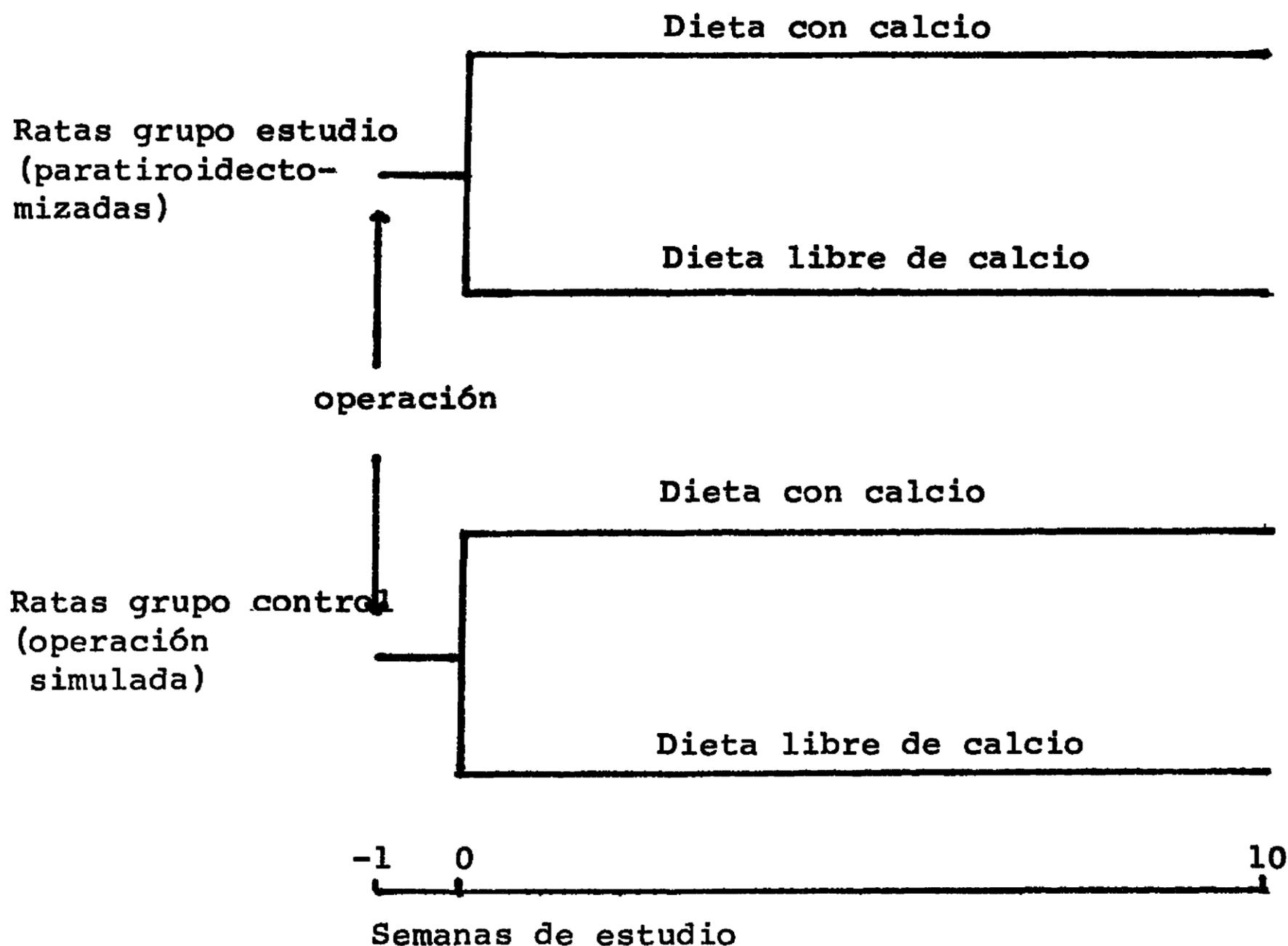
postapareamiento. Al día 20 todas las ratas fueron sacrificadas. Se les extrajo sangre de la aorta abdominal para determinaciones de calcio total, magnesio, fósforo inorgánico y proteínas totales. Se extrajo así mismo el fémur derecho y en las ratas embarazadas, el útero.

I b) HIPOTESIS

El efecto del calcio sobre la presión arterial es mediado por la acción de hormona paratiroidea.

Para investigar el efecto de la paratiroidectomía y de la ingesta dietética de calcio sobre la presión arterial, se estudiaron durante 10 semanas 42 ratas hembra de la raza Wistar de 60 días de edad.

El diseño experimental fue el siguiente:



Las ratas paratiroidectomizadas fueron obtenidas de Charles River Breeding Laboratories, Kingston, NY.

De las 42 ratas recibidas, 24 fueron paratiroidectomizadas y 18 sufrieron una operación simulada, en donde se llegó hasta la visualización de las glándulas. De esta manera todas las ratas estuvieron sometidas a un trauma quirúrgico similar. Según Casewell (87), las ratas pueden presentar paratiroides en localizaciones aberrantes, lo que hace que la eficiencia real de la operación se reduzca a 75 % del total de casos operados. Generalmente se considera una remoción efectiva, cuando los valores de calcio total en suero son inferiores a 8.20 mg/dl (88).

Al cumplir una semana de operadas, a todas las ratas se les extrajo sangre de la cola para efectuar determinaciones de calcio sérico y establecer así el número de operaciones exitosas.

Del grupo paratiroidectomizado se consideró como efectiva la operación en 18 ratas, las que presentaron un valor promedio de calcio total de 7.75 ± 0.48 mg/dl ($X \pm DS$). El grupo de ratas control (operación simulada), presentó niveles de calcio total de 11.08 ± 0.76 mg/dl. Las 6 ratas restantes del grupo paratiroidectomizado, tuvieron un valor promedio de calcio sérico de 10.23 ± 0.76 mg/dl, por lo que fueron excluidas del estudio, ya que se consideró que la operación no había sido exitosa.

El mismo día de la extracción de sangre, las ratas paratiroidectomizadas (PTX) y las no paratiroidectomizadas (no PTX), fueron asignadas al azar a una dieta con un contenido de calcio normal, o a una dieta libre de calcio. Estas dietas fueron ofrecidas ad libitum. La composición de ambas dietas fue idéntica a la que se utilizó en los estudios anteriores (Tabla 4).

De esta manera se establecieron 4 grupos de 9 animales cada uno

GRUPO 1: ratas paratiroidectomizadas alimentadas con una dieta completa (PTX, Ca).

GRUPO 2: ratas paratiroidectomizadas alimentadas con una dieta libre de calcio (PTX, no Ca).

GRUPO 3: ratas con paratiroides alimentadas con una dieta completa (PT, Ca).

GRUPO 4: ratas con paratiroides alimentadas con una dieta libre de calcio (PT, no Ca).

A partir del día de iniciación de dieta diferencial, se efectuaron tomas de la presión arterial en forma semanal, midiéndose en esos mismos días el peso corporal. Al fin de la última semana de estudio, todas las ratas fueron anestesiadas y se les extrajo sangre de la aorta abdominal y el fémur derecho para análisis posteriores. En el suero se efectuaron determinaciones de calcio total, magnesio, fósforo inorgánico y proteínas totales. En hueso se determinó calcio total y fósforo.

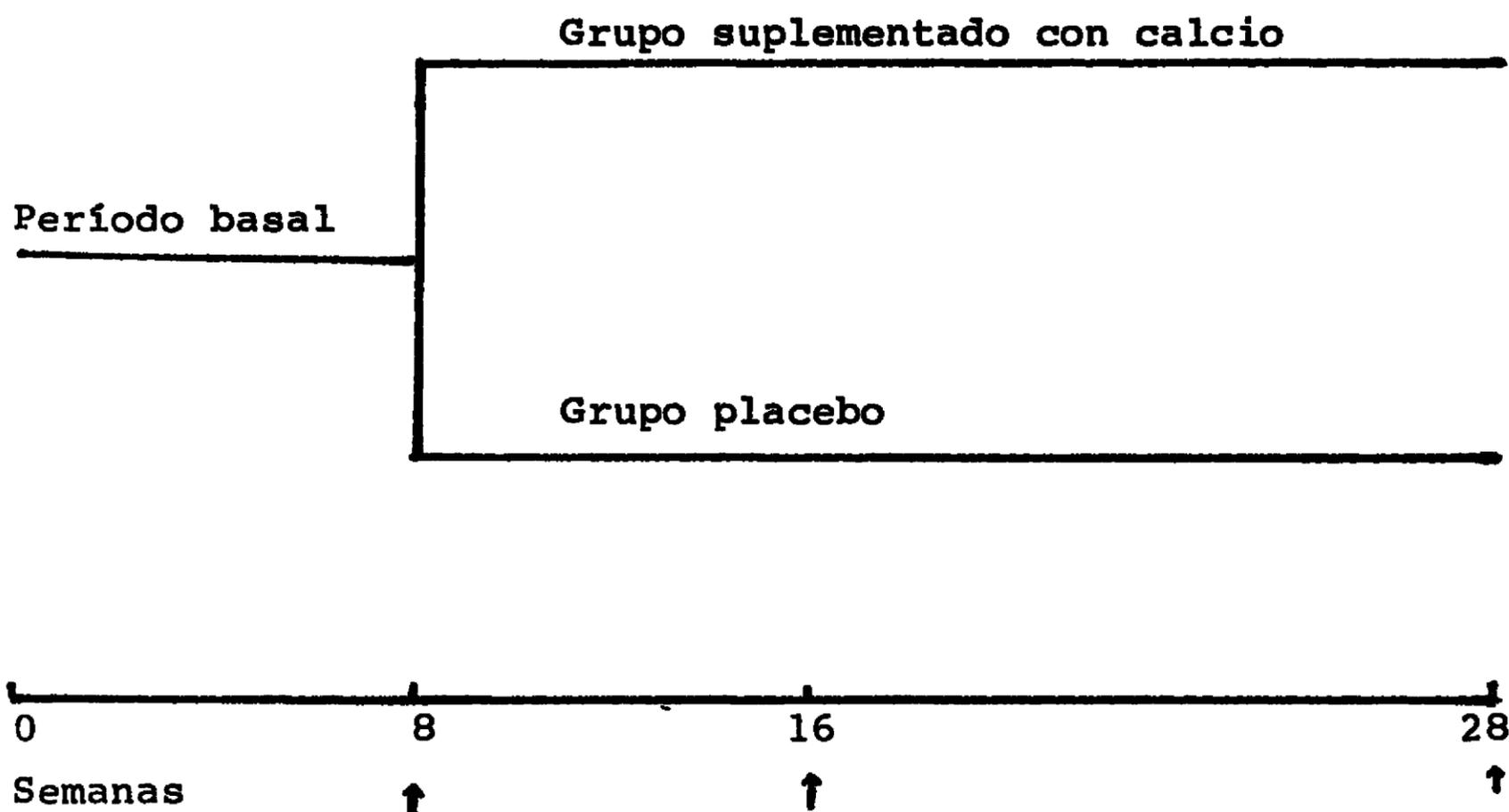
II a) HIPOTESIS

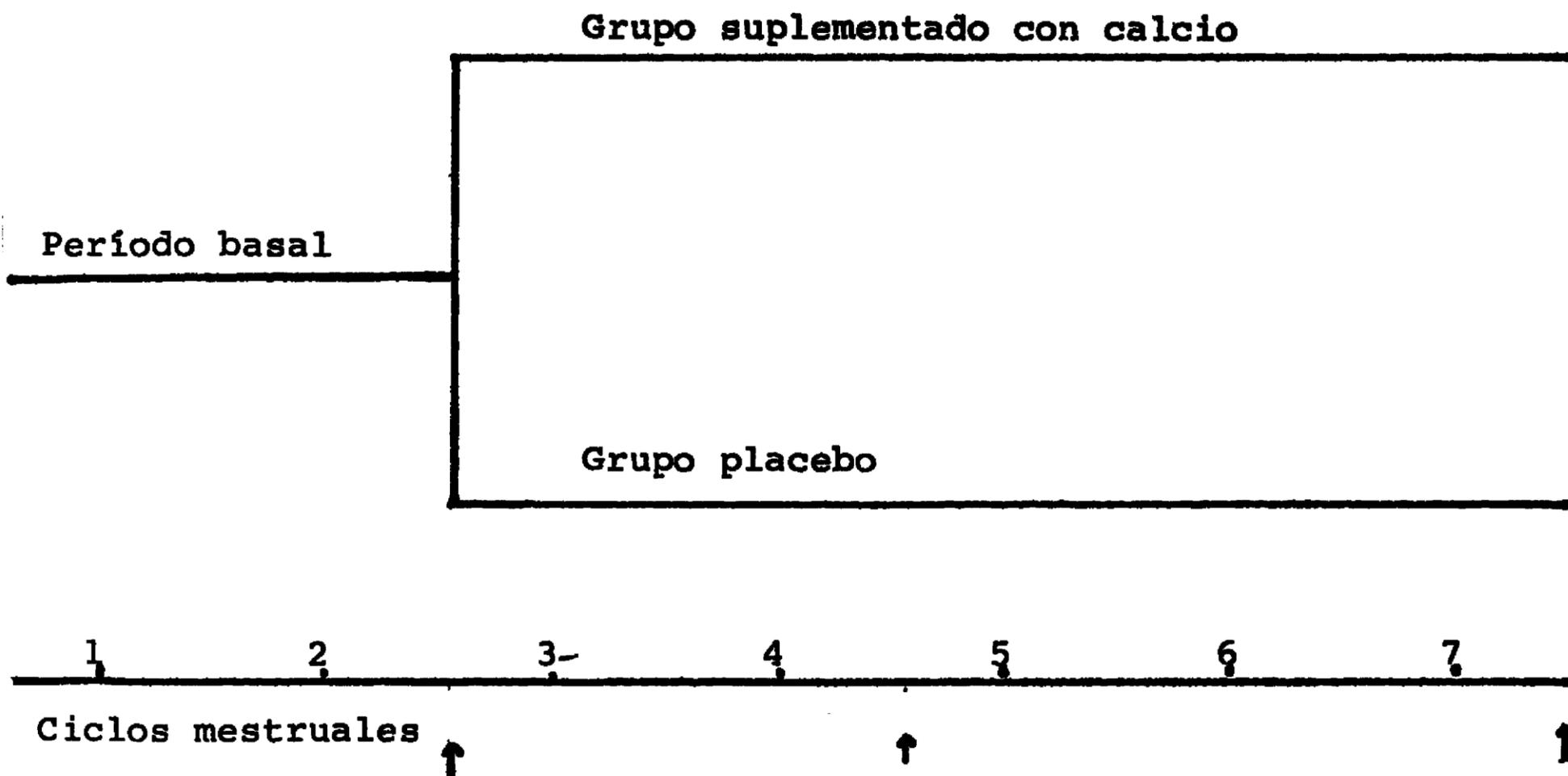
En humanos normotensos, la suplementación dietética con calcio produce una disminución en la presión arterial.

Para investigar el efecto de la suplementación dietética con calcio sobre la presión arterial, se estudiaron 57 individuos normotensos (28 hombres y 29 mujeres), comprendidos entre 18 y 35 años de edad. El estudio tuvo una duración en los hombres de 28 semanas y de 7 ciclos menstruales en las mujeres.

El diseño experimental fue el siguiente:

HOMBRES



MUJERES

(↑) Extracción de sangre

El estudio estuvo dividido en dos períodos. En el primer período se recogieron datos basales (presión arterial, peso, composición de la dieta) y tuvo una duración de 8 semanas para los hombres y de 2 ciclos menstruales para las mujeres. Al cabo de dicho período, los individuos fueron asignados al azar a uno de dos grupos:

GRUPO SUPLEMENTADO CON CALCIO: ingirió una tableta diaria que contenía 0.8 g de carbonato de calcio y 5.23 g de gluconolactato de calcio, lo que representa 1 g de calcio.

GRUPO PLACEBO: recibió una tableta diaria de las mismas características organolépticas que la tableta del grupo anterior, pero libre de calcio.

Las tomas de presión arterial se realizaron en tres posiciones: decúbito lateral, decúbito dorsal y sentado. Se efectuaron cinco mediciones en cada posición y se calculó el promedio de las presiones, los cuales fueron utilizados para el análisis estadístico.

De los 28 hombres, 15 formaron parte del grupo suplementado con calcio y 13 del grupo placebo. De las 29 mujeres, 15 pertenecieron al grupo suplementado con calcio y 14 al placebo.

Para los hombres las tomas de presión arterial se realizaron cada dos semanas. En la octava semana de iniciado el estudio (última del período basal) se tomó una muestra de sangre y se inició el tratamiento que correspondía de acuerdo con el grupo, el que continuó durante 20 semanas. Se tomaron además, otras dos muestras de sangre, una en la 16 semana de iniciado el estudio y otra en la semana 28 al finalizar el mismo.

Las mujeres fueron programadas en base a la duración de sus ciclos menstruales, de manera que las tomas de presión arterial se realizaron lo más cercana posible a los días 5, 14 y 21 del ciclo menstrual. La suplementación se inició a la mitad del tercer ciclo, tomándose al mismo tiempo la primera muestra de sangre. Las otras dos muestras de sangre se tomaron a la mitad del segundo y quinto ciclo menstrual después de iniciado el tratamiento. Las mujeres fueron calendarizadas en base a sus ciclos menstruales debido a los efectos de los cambios hormonales sobre el metabolismo del calcio (89).

El mismo día de la toma de la presión arterial también se midió el peso y se recogió información acerca de enfermedades, cumplimiento del tratamiento, tipo y cantidad de alimentos ingeridos el día anterior.

DESCRIPCION DE LAS TECNICAS

1-TOMA DE LA PRESION ARTERIAL

1-1 En ratas

Se efectuó utilizando un método de medición indirecto, el cual se correlaciona muy bien con métodos directos (90).

El procedimiento utilizando ratas no anesteciadas es el siguiente: se coloca la rata en una jaula especial que restringe sus movimientos. Su cuerpo se calienta por unos minutos con una lámpara infrarroja para producir dilatación de los vasos sanguíneos de la cola y de esa manera poder detectar el pulso. En la cola de la rata se coloca un manguito, que al inflarse bloquea el flujo sanguíneo arterial. Dicho manguito se conecta a un fisiógrafo vía un manómetro y una bomba neumática. Además, se coloca en la cola un sensor neumático que permite determinar el momento de apareamiento del pulso, al disminuir la presión ejercida por el manguito. El sensor neumático del pulso se conecta a un transductor de sonido, que a su vez es conectado a un preamplificador y luego a un fisiógrafo.

Este método solo sirve para determinar presión sistólica.

1-2 En humanos

Se utilizó un manómetro de columna de mercurio. El ambiente donde se tomó la presión arterial se mantuvo a una temperatura confortable y con luz intermedia. Antes de efectuar la primera toma de presión arterial, el sujeto permanecía acostado en la camilla durante un período de 10 minutos. Se realizaron 5 tomas con intervalo de 1 minuto en la posición decúbito lateral del mismo lado del brazo donde estaba el manguito. Luego se pasó a la posición decúbito dorsal donde nuevamente se tomó la presión arterial 5 veces con un intervalo de 1 minuto entre toma y toma. Posteriormente y ya con el sujeto en posición sentado se repitieron las 5 mediciones.

2-EXTRACCION DE SANGRE

2-1 En ratas

Por corte de la cola: a la rata semianestesiada con eter etílico embebido en un algodón, se le calienta la cola para una mejor vasodilatación. Luego con un bisturí se secciona la punta de la cola. La sangre que fluye libremente se recoge en un tubo que no contiene ningún aditivo. Se deja coagular la sangre y luego se centrifuga para obtener el suero.

La hemostacia se realiza atando con un hilo fino la punta de la cola y sellándola con colodión.

De la aorta abdominal: se anestesia a la rata con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico, utilizando una dosis de 32 mg por Kg de peso. Luego se hace una incisión en la línea media del abdomen. Los intestinos y otras vísceras abdominales se desplazan hacia afuera de manera de conseguir el campo necesario que permita la visualización de la arteria aorta abdominal. La canalización de dicha arteria permite obtener cinco o más mililitros de sangre. La sangre se coloca en tubos sin aditivos y una vez coagulada se centrifuga para la obtención de suero.

2-2 En humanos

De la vena antecubital se extrajeron 10 ml de sangre utilizando un tubo vacuteiner sin ningún aditivo. Una vez coagulada se centrifugó para separar el suero.

Tanto el suero de ratas como el de humanos se congeló a -20°C hasta el momento de efectuar las determinaciones.

3-HUESO

3-1 Obtención: una vez muerta la rata, se desarticuló cuidadosamente el fémur derecho. Luego se limpiaron para quitarles todo resto de materia orgánica que pudo haber quedado adherida en su superficie. Posteriormente se pesaron para establecer el peso húmedo.

3-2 Preparación de cenizas: los huesos se secan por 16-18 horas a 100°C y se determina su contenido de agua. Los huesos ya secos se colocan en un horno a 600°C durante 16 horas, obteniéndose así las cenizas, las cuales, una vez enfriadas en una desecadora, se pesan (91).

DETERMINACIONES

1- CALCIO TOTAL Y MAGNESIO

Las determinaciones de estos metales se llevaron a cabo por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando un aparato Varian Techtron modelo AA 775. Se usó una llama reductora de aire/acetileno. Para evitar interferencias de otros elementos se agregó lantano a las muestras (92). Para la determinación, las muestras se diluyeron convenientemente con lantano al 0.1 %.

Para el calcio las lecturas se efectuaron a una longitud de onda de 422.7 nm y un slit de 0.5 nm. Para el magnesio la longitud de onda utilizada fue 285.2 nm y el slit 0.5 nm.

2- CALCIO IONICO

Método directo: se utilizó un electrodo de calcio (electrodo específico de calcio, Orion 93-20, Orion Research, Cambridge MA) (93).

Método indirecto: se calculó utilizando la fórmula de Zeisler (94), a partir de los valores de proteínas y calcio total.

$$\text{Ca}^{2+} \text{ mg/dl} = \frac{6 \text{ Ca} - \text{P}/5}{\text{P} + 6}$$

Ca = calcio total

P = proteínas totales

3- FOSFORO INORGANICO: por espectrofotometría utilizando el método de Fiske Subbarow modificado (95).

Las mediciones de absorbancia se efectuaron en un espectrómetro Varian modelo 634, a una longitud de onda de 750 nm y slit de 0.5 nm.

4- ALBUMINA: por espectrometría utilizando púrpura de bromocresol, el cual se une selectivamente a la albúmina (96). La longitud de onda seleccionada fue de 603 nm y el slit 0.5 nm.

5- PROTEINAS TOTALES: por refractometría (97).

6- CALCIO TOTAL Y FOSFORO INORGANICO EN CENIZAS DE FEMUR: las cenizas se disuelven en 10 ml de una solución de HCl 3 N, calentándose luego hasta evaporación. Por sucesivos lavados con agua desionizada se transfirió la solución a un balón de 100 ml (91).

A partir de estas soluciones se efectuaron diluciones apropiadas que permitieran, para cada método, entrar dentro del rango de respuesta lineal. Los métodos de valoración fueron los mismos que se describieron anteriormente, con la excepción de que en la determinación de calcio total la concentración final de lantano fue de 0.25 %.

RESULTADOSI a) RATAS DE 90 DIAS

En las primeras semanas de estudio se murieron 2 ratas del grupo de dieta sin calcio, lo que dejó a dicho grupo con 18 ratas.

El peso de las ratas al principio del experimento fue de 192 ± 18.3 g ($X \pm DS$) y 186 ± 19 g y al final de 220 ± 19.1 g y 212 ± 20 g para los grupos control y sin calcio respectivamente. En cada fase las diferencias entre grupos no fueron significativas.

En la tabla 6 y figura 1 se muestran las presiones arteriales de ambos grupos durante el período de estudio. Para el análisis estadístico se utilizó un análisis de varianza de medidas repetidas (98). Durante la primera semana, las presiones arteriales de ambos grupos están dentro de ± 1 ES, por lo tanto el análisis estadístico consideró las presiones a partir de la segunda semana. Los resultados del análisis mostraron un claro efecto de la dieta sobre la presión arterial entre los grupos ($F=9.99$ $P=0.0035$). No se vio un efecto de tiempo (semanas de estudio), ni tampoco hubo interacción tiempo por tratamiento (dieta).

Las muestras de sangre recolectadas al principio del experimento, no fueron analizadas por mostrar un alto grado de hemólisis, lo cual afecta los resultados. En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos con el análisis de la sangre extraída el último día del estudio. El contenido de calcio total y calcio iónico fue significativamente más bajo en el grupo de ratas con dieta libre de calcio. No hubo diferencias con respecto al contenido de proteínas totales entre grupos.

En resumen, en el grupo de ratas con dieta libre de calcio, se observó un incremento en la presión arterial y una disminución en los niveles séricos de calcio iónico y total.

RATAS DE 140 DIAS

Dos ratas del grupo de dieta libre de calcio murieron en el transcurso del estudio, por lo que dicho grupo quedó con 16 animales.

En la figura 2 y tabla 8 se muestra el efecto de las dietas sobre la presión arterial hasta el momento del apareamiento. Para el análisis estadístico se utilizó análisis de varianza de medidas repetidas (98). Los resultados mostraron un efecto de tiempo ($F=4.61$ $P=0.0001$), tratamiento ($F=21.1$ $P=0.0002$) y una interacción tiempo por tratamiento ($F=12.46$ $P=0.00001$). El grado de significancia de las diferencias se estableció utilizando el método de Scheffé para com-

paraciones múltiples (99). Se consideraron los promedios a partir de la quinta semana de estudio, los cuales fueron diferentes ($S=66.3$ $P=0.05$).

La figura 3 y la tabla 9 muestran las presiones arteriales del período postapareamiento. Para investigar el efecto del embarazo, se efectuó un análisis de varianza de medidas repetidas.

En el grupo de ratas de dieta sin calcio no se observaron cambios significativos.

En el grupo de ratas con dietas con calcio si hubo un efecto significativo ($F=13.4$ $P=0.002$). Aplicando Scheffé se encontró que los promedios de las presiones del último día de estudio eran diferentes ($S=6.56$ $P=0.05$); también la presión del día 20 era diferente con respecto a la del día 1, tanto en el grupo de ratas embarazadas como en el de las no embarazadas ($S=6.56$ $P=0.05$).

En la tabla 10 se muestra el efecto de la dieta sobre el crecimiento de las ratas, al inicio del estudio, a la semana 9 y al finalizar el estudio. Ambos grupos de ratas crecieron en forma similar. No hubo diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los períodos estudiados.

En las tablas 11 y 12 se pueden observar el efecto de la dieta sobre el embarazo. En ambos grupos hubo un incremento en peso similar. La suma de los pesos de útero, placenta y fetos fue significativamente mayor en el grupo de dieta con calcio ($t=1.98$ $P=0.05$). Esto se debe a una mayor masa útero-placentaria en los animales alimentados con la dieta con calcio ($t=2.57$ $P=0.05$). Además y como era de esperarse, hay diferencias significativas en el número de fetos por camada entre ambos grupos ($t=2.59$ $P=0.05$). Sin embargo, el peso promedio por feto fue igual en ambos grupos, así como el contenido de calcio por feto. La necesidad promedio total de calcio para la formación de hueso fetal fue de 35.4 mg y de 24.1 mg para los grupos de dieta con calcio y libre de calcio respectivamente. Esta diferencia se debe sólo al tamaño de las camadas.

En la tabla 13 se muestra el efecto del tratamiento dietético y del embarazo sobre los distintos parámetros bioquímicos en suero y hueso al último día del estudio. Hay un efecto significativo del embarazo sobre el contenido de proteínas totales en suero y de la dieta sobre el contenido de fósforo y la relación calcio/magnesio. En hueso, la dieta afectó significativamente el contenido de calcio.

DISCUSION

El efecto de la dieta libre de calcio sobre la presión arterial se estableció a tiempos diferentes en los dos experimentos. Para los animales más viejos el tiempo fue mayor. Esto podría deberse a una

mayor reserva de calcio en las ratas de más edad y a una demanda mayor de calcio para crecimiento en los animales más jóvenes. De todas maneras, ambos experimentos concuerdan en mostrar un efecto de la ausencia de calcio de la dieta sobre la presión arterial. En favor del argumento edad/velocidad de crecimiento se encontró que estadísticamente existía interacción únicamente en el grupo de ratas de 140 días.

No encontramos explicación aparente para el descenso de la presión en las ratas de 90 días a la primera semana de tratamiento.

En ratas embarazadas del grupo control, la caída significativa de la presión arterial al final del embarazo, se podría atribuir a un efecto de prostaglandinas. Se ha señalado (100), que en la etapa final del embarazo hay un aumento en la producción de prostaglandinas de la serie E (vasodilatadoras). Por otro lado, la ausencia de dicho fenómeno en el grupo de ratas embarazadas alimentadas con la dieta libre de calcio, podría explicarse por la acción del calcio sobre la liberación de prostaglandinas plaquetarias y de ácidos grasos. Se conoce que el calcio juega un papel importante en la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana plasmática, a partir del cual se biosintetizan las prostaglandinas más importantes (65).

La segunda parte de la hipótesis del experimento, relativa al incremento de la presión arterial durante el embarazo y en especial en las ratas alimentadas con dieta libre de calcio no fue observada. Es posible que contrariamente a nuestras especulaciones, la rata no sea el modelo más adecuado para reproducir la hipertensión asociada al embarazo inducida por déficit de calcio. La rata, al igual que otros mamíferos, pueden acumular calcio en el esqueleto, el que puede ser utilizado en el embarazo al aumentar su demanda para formación de hueso fetal (101).

Las diferencias significativas en los niveles de calcio iónico y total en suero observadas en las ratas de 90 días, no se vio en el grupo de ratas de 140 días. Esto posiblemente se deba a que las ratas de menor edad al encontrarse creciendo a una velocidad mayor, tienen una demanda de calcio más grande, pudiendo entrar en deficiencia más rápidamente. Por esta razón es posible argumentar porqué las deficiencias en calcio observadas en los animales jóvenes, no se presentan en los animales de mayor edad con menores necesidades de calcio y menor crecimiento. La concentración normal de calcio

La concentración normal de calcio total en suero en la rata, es de alrededor de 10 mg/dl o más o menos 5 mg/dl de sangre. Las ratas con un peso de 250 g tienen unos 15 ml de sangre, por lo tanto la cantidad total de calcio en sangre sería de unos 0.75 mg, lo que

constituiría 0.01 % del calcio del esqueleto. Así se puede ver que la cantidad de calcio que se necesita remover de hueso para mantener los niveles plasmáticos, es una porción muy pequeña del calcio óseo. Esto no significa que se pueda contralar fácilmente la concentración de calcio en plasma. Solo cierta cantidad del calcio del hueso es intercambiable y varios mecanismos hormonales están involucrados en la homeostasis plasmática del calcio. Alteraciones a nivel hormonal se traducen en modificaciones en el metabolismo del calcio.

Las ratas embarazadas presentaron una disminución significativa en la concentración de proteínas totales en suero, lo cual podría deberse a la expansión del volúmen plasmático y al aumento en la filtración glomerular que se observa durante el embarazo.

Las ratas embarazadas del grupo con dieta libre de calcio tuvieron un número de fetos por camada significativamente menor que el grupo control, aunque el peso promedio y la cantidad de calcio por feto fueron similares. Esto estaría indicando que con el objeto de lograr crías con un peso y contenido de calcio adecuado se limita el número de fetos por camada.

Con respecto a la concentración de calcio en el fémur de las ratas, sólo se vio un efecto significativo atribuible a la dieta. El aumento en los requerimientos de calcio durante el embarazo, no fue suficiente como para acentuar la deficiencia ya producida por la dieta, medida por la concentración de calcio en hueso. Aquí cabe preguntarse si el calcio es removido de todos los huesos por igual, o si hay remoción selectiva. En este experimento se investigó solo el fémur, por lo que de haberse producido mayores cambios en otro hueso no podría haber sido establecido. Por otro lado, si se analiza cuanto representa la demanda de calcio durante el embarazo, se puede ver lo siguiente: una rata adulta contiene un promedio de 3 g de calcio por cada 100 g de peso. Las ratas de este experimento, con un peso promedio de 250 g contienen alrededor de 7.5 g de calcio. Noventa y nueve por ciento del calcio total se encuentra en los huesos y dientes, pudiendo una parte importante del mismo ser intercambiable. De acuerdo con los resultados de este experimento, la demanda total de calcio durante el embarazo fue de unos 35 mg, lo que representa 0.5 % del total de calcio del hueso. Es decir que las necesidades de calcio durante la gestación representan un porcentaje muy bajo del contenido total de calcio de la rata.

Esta observación coincide con hallazgos en humanos, en el sentido de que no se han observado cambios en la densidad de los huesos durante el embarazo, aun en situaciones de ingestas muy bajas de calcio (24).

RESULTADOS

I b) RATAS PARATIROIDECTOMIZADAS

La presión arterial sistólica de los cuatro grupos de ratas se presenta en la figura 4 y tabla 14. Al inicio del experimento no hubo diferencias significativas entre los grupos. Debido a la varia bilidad observada, para el análisis estadístico se consideraron los valores inicial y final de presión arterial por rata en cada grupo. Luego se efectuó un análisis de varianza de dos vías para investigar el efecto de la dieta y de la paratiroidectomía(102).

Las ratas paratiroidectomizadas alimentadas con la dieta sin calcio mostraron, al final del experimento, una disminución significativa de la presión arterial, al compararlas tanto con el grupo sin paratiroides y de dieta con calcio, como con el grupo con paratiroides y que consumió la dieta libre de calcio (Tabla 15).

La figura 5 y la tabla 16, muestran el peso corporal de las ratas por grupos durante el período de estudio. Al inicio, los cuatro grupos tuvieron valores similares. A la primera semana de estudio las ratas sin paratiroides y sin calcio en la dieta, habían disminuido su peso de una manera significativa con respecto al de los otros tres grupos. Esta diferencia se mantuvo a lo largo de todo el estudio.

En las tablas 17 y 18, se muestra el efecto de los tratamientos sobre los parámetros bioquímicos estudiados, tanto en suero como en hueso a los días primero y último del estudio. Para el análisis estadístico de los mismos, se aplicó análisis de varianza de una vía en los resultados del primer día de estudio y de dos vías para el resto. Se utilizó el método de Tukey(103), para investigar el grado de significación de las diferencias.

Al inicio del estudio, los niveles de calcio total en suero fueron similares en el grupo de ratas paratiroidectomizadas. Como grupo los niveles difirieron del grupo control ($P=0.0001$). Al final del estudio, las ratas paratiroidectomizadas mantenidas con la dieta con calcio, mostraron un ligero incremento en calcio sérico total en relación a sus valores iniciales.

La concentración de fósforo inorgánico en suero, se vio afectada por la dieta y por la paratiroidectomía. Los grupos de ratas paratiroidectomizadas tuvieron niveles de fósforo significativamente más elevados que los grupos de ratas con paratiroides.

Las concentraciones de magnesio y proteínas totales en suero, no mostraron diferencias significativas entre los grupos.

Los resultados del análisis de hueso de los diferentes grupos experimentales se muestran en la tabla 18. En lo que respecta a la

concentración de calcio y fósforo inorgánico, se vieron diferencias significativas de los tratamientos.

En lo referente al contenido total de calcio y fósforo por fémur, hubo diferencias significativas únicamente en relación al tratamiento dietético.

La paratiroidectomía afectó significativamente el tamaño del fémur. Esto obviamente refleja las diferencias en talla observadas entre estos grupos de animales. Como confirmación de ello, el grupo sin paratiroides pero alimentado con una dieta con calcio, mostró pesos del hueso iguales a los de los grupos control.

DISCUSION

En las ratas estudiadas, la paratiroidectomía y la dieta libre de calcio condujeron a una disminución de la presión arterial. Es posible que este efecto sea debido a la reducción de calcio intracelular como consecuencia de la ausencia de paratiroides.

En condiciones normales, la hormona paratiroidea actúa a nivel de músculo vascular liso, produciendo un aumento intracelular de calcio. Este efecto se debe a un incremento en la traslocación del calcio extracelular y a una mayor liberación del calcio de la mitocondria al citoplasma. En estas condiciones la tonicidad muscular aumenta, lo que conduce a un incremento en presión arterial.

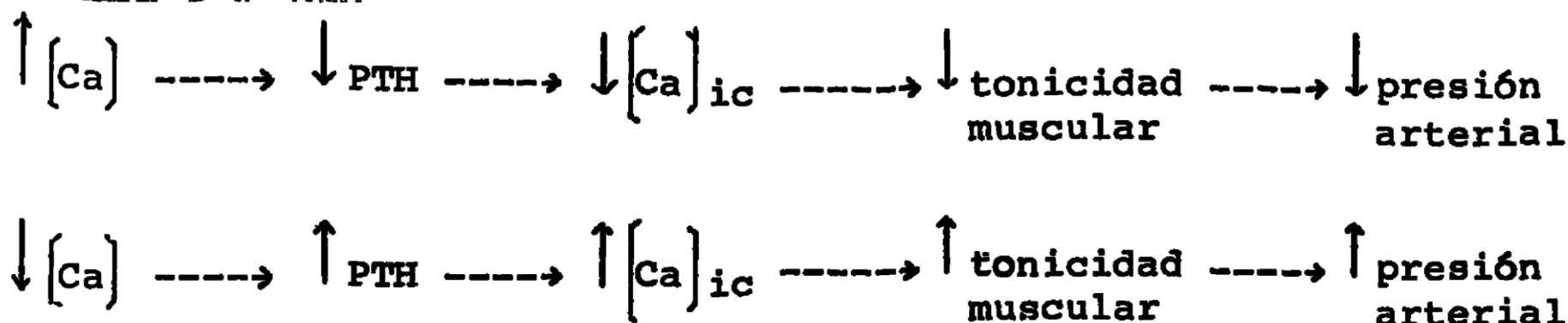
Sin embargo, la concentración de la hormona está regulada por la concentración de calcio circulante. Un incremento en la concentración de calcio significa una disminución en la concentración de hormona paratiroidea, lo que a su vez se traduce en menor translocación de calcio al citoplasma y a relajación muscular y por lo tanto a una disminución en la presión arterial.

Por el contrario, al disminuir la concentración de calcio circulante, la concentración de hormona paratiroidea es incrementada, conduciendo a un mayor influjo de calcio a la célula muscular, a un incremento en su tonicidad y por lo tanto a un incremento en la presión arterial.

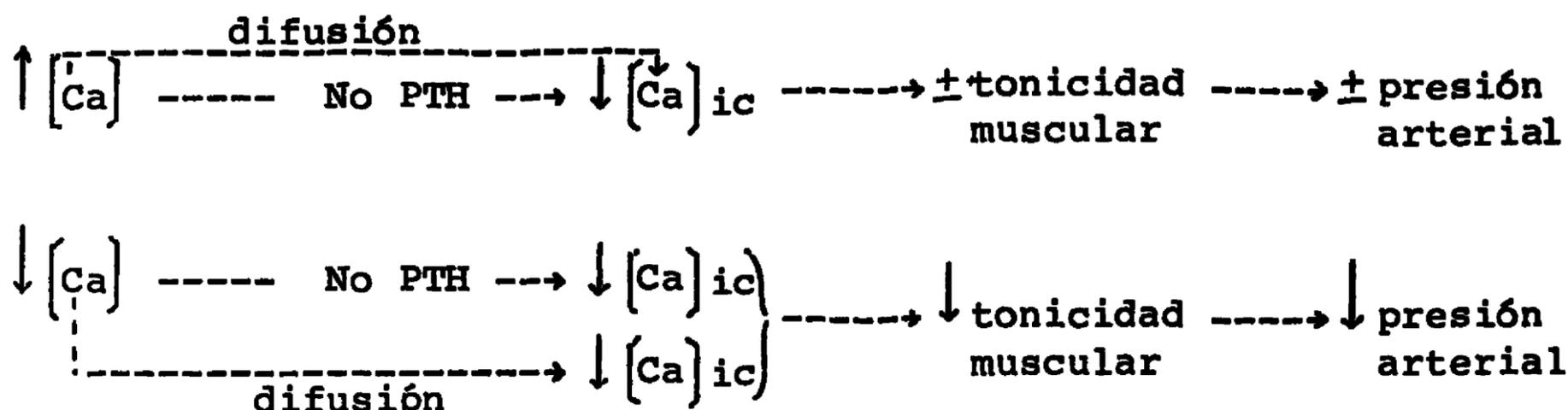
En ausencia de paratiroides, no puede existir cambio en la concentración de hormona paratiroidea, por lo tanto cabría esperar que animales paratiroidectomizados ingiriendo calcio en la dieta, mostrarán una disminución en la concentración de calcio intracelular debida a la falta de hormona paratiroidea. También podría esperarse un aumento en la difusión del calcio extracelular, debido al gradiente de concentración más favorable ocasionado por la falta de hormona paratiroidea. Estas dos acciones recíprocas en conjunto, podrían significar que tanto la tonicidad muscular como la presión arterial, permanecieran sin cambio aparente. En condiciones de déficit en in-

gesta de calcio, estos animales mostrarían una disminución en la concentración de calcio intracelular debida a la acción concertada de ausencia de hormona paratiroidea y de disminución del calcio extracelular.

En animales normales:



En animales paratiroidectomizados:



PTH= hormona paratiroidea

ic= intracelular

Los resultados aquí presentados pueden ser explicados con base a la interpretación de la forma de acción de la hormona paratiroidea y calcio arriba explicados.

Es posible que estos efectos no sean permanentes y que al adaptarse el animal a los cambios en ingesta de calcio, otros mecanismos de homeostasis entren en juego y cambien los efectos observados sobre la presión arterial.

Otros autores, Berthelot y Gairard (84, 104) han mostrado que en ratas paratiroidectomizadas, no es posible inducir hipertensión por deoxicorticosterona (DOCA), lo que implica aun más a la hormona paratiroidea como mediadora en la acción hipertensora de mineralocorticoide.

coides. Por otro lado, estudios experimentales han señalado la importancia de los iones calcio en el desarrollo de la hipertensión. Se ha visto que ratas de la cepa hipertensiva espontánea tenían niveles de calcio iónico disminuidos al compararlas con ratas de la raza Sprague-Dawley y Wistar-Kyoto (105, 106, 107).

También en la presencia de hipertensión renal, el tejido arteriolar mostró un incremento en la concentración de calcio (108), al igual que aortas de ratas con hipertensión espontánea o inducida por mineralocorticoides (109, 110).

Esto refuerza nuestro argumento involucrando la acción del calcio mediada por PTH como mecanismo responsable del aumento de la presión arterial.

El grupo de ratas paratiroidectomizadas mantenidas con la dieta libre de calcio, no fueron capaces de mantener la misma velocidad de crecimiento que las ratas normales o que el de las ratas paratiroidectomizadas con dieta con calcio. Esta última observación parecería indicar que la dieta libre de calcio, es menos apetecida por los animales paratiroidectomizados y que la baja ingesta llevó a un menor incremento de peso. Las correlaciones entre peso y presión arterial, mostraron que no existía relación estadística significativa entre estas dos variables.

Los resultados de las determinaciones bioquímicas mostraron también el efecto de la paratiroidectomía y de la dieta libre de calcio.

En el grupo de ratas sin paratiroides y con calcio en la dieta, se observó un pequeño incremento en los valores de calcio en suero al final del estudio con respecto a los valores iniciales. Esto se podría atribuir a dos factores: por un lado, la existencia de una pequeña actividad hormonal por parte de glándulas paratiroides aberrantes (87) y por el otro, a la presencia de calcio en la dieta (111). Es así entonces que las ratas paratiroidectomizadas de nuestro estudio que tuvieron una dieta con un contenido de calcio normal, posiblemente hubiesen llegado a alcanzar niveles plasmáticos normales de calcio si el experimento se hubiera prolongado por más tiempo.

Boyle et al (28), han mostrado que la absorción de calcio a nivel intestinal no se altera por la paratiroidectomía, ya que tanto ratas intactas como paratiroidectomizadas, incrementan la absorción neta de calcio en respuesta a un menor contenido de calcio en la dieta. En estas ratas se encontraron niveles plasmáticos aumentados de $1,25-(OH)_2D_3$, lo cual explicaría la mayor absorción de calcio.

Existe otro trabajo (112), donde se ha mostrado que animales paratiroidectomizados tienen concentraciones disminuidas de $1,25-(OH)_2D_3$ tanto en plasma como en intestino y que la concentración de es-

ta hormona aumentaba después del tratamiento con extracto de paratiroides. Esto sugiere que la hormona paratiroidea es la encargada de estimular la producción de $1,25-(OH)_2D_3$. Por otro lado Favus et al (113), encontraron en ratas tiro-paratiroidectomizadas alimentadas con una dieta baja en calcio, niveles disminuidos de $1,25-(OH)_2D_3$ en plasma y una acumulación selectiva en la mucosa intestinal.

Como se ha visto, existe cierta discrepancia con respecto al rol mediador de la hormona paratiroidea en la formación de $1,25-(OH)_2D_3$. Evidencias más recientes parecen confirmar que la producción de $1,25-(OH)_2D_3$ ocurre tanto en animales intactos como en animales paratiroidectomizados (112).

Las ratas paratiroidectomizadas con dieta libre de calcio, mostraron niveles bajos de calcio sin tendencia a la normalización. Esto se puede explicar tanto por la falta de calcio en la dieta, como por la falta de capacidad de movilización de calcio del hueso a la sangre. Este último mecanismo permitiría a las ratas con paratiroides y sin calcio en la dieta, mantener al final del experimento niveles plasmáticos de calcio semejantes a las ratas del grupo con paratiroides y con calcio en la dieta.

Larsson y Ahlgreen (112), observaron que ratas alimentadas con una dieta pobre en calcio, ya sean intactas o paratiroidectomizadas, presentan una absorción de fósforo muy aumentada. En nuestro estudio, las ratas paratiroidectomizadas y sin calcio en la dieta, fueron las que presentaron los niveles más altos de fósforo en plasma, lo cual estaría de acuerdo con las observaciones ya mencionadas.

Dicho incremento en fósforo plasmático no se vio en el grupo de ratas con paratiroides y sin calcio en la dieta, lo cual podría ser el reflejo de la actividad fosfatúrica de la hormona paratiroidea. Precisamente la falta de dicha actividad explicaría el aumento observado en los niveles de fósforo en el grupo de ratas sin paratiroides y con calcio en la dieta.

Existen una serie de trabajos (112, 114, 115), donde se muestra el efecto protector de la paratiroidectomía en el desarrollo de osteoporosis en ratas adultas alimentadas con una dieta deficiente en calcio. Esto pone de manifiesto la incapacidad del organismo de movilizar, en ausencia de hormona paratiroidea, calcio de hueso a la sangre.

En nuestro estudio, cuando se analiza la concentración de calcio y de fósforo inorgánico en fémur, se puede ver que siguió un patrón de cambio similar. El grupo de ratas con paratiroides y sin calcio en la dieta, mostró los niveles de calcio y fósforo más bajos de los cuatro grupos, lo cual reflejaría la acción de la hormona paratiroidea.

Si analiza ahora la cantidad total de calcio y fósforo inorgánico en el fémur, se puede ver que el grupo de ratas sin paratiroides y alimentadas con una dieta sin calcio, es el que tiene los niveles más bajos de los cuatro grupos. Esto es indudablemente debido a que siendo animales significativamente más pequeños el peso del fémur es menor.

II a) ESTUDIO EN HUMANOS

ANALISIS ESTADISTICO

Las presiones arteriales de cada individuo durante el período basal fueron promediadas. Dicho valor promedio se tomó como el nivel de presión arterial basal. Para evitar que la variabilidad biológica en la presión arterial entre individuos pudiera ocultar, si se daba, algún efecto de la suplementación de calcio sobre la presión, para el análisis estadístico se consideraron los cambios porcentuales de presión de cada individuo con respecto a su nivel basal. Con estos cambios porcentuales se calcularon, haciendo análisis de regresión lineal simple, los coeficientes de regresión de cada grupo. Luego se analizaron las pendientes para ver si diferían significativamente de cero.

RESULTADOS

Algunos individuos abandonaron el estudio antes de su finalización (Figura 6). Sin embargo, para el análisis de datos fueron tenidos en cuenta hasta el momento en que desertaron. Las mujeres tomaron 96 % y 97 % del número total de tabletas en los grupos calcio y placebo respectivamente. Entre los hombres el cumplimiento fue de 95 % y 98 % para los grupos calcio y placebo respectivamente.

Durante el período basal, antes del inicio del tratamiento, no se observaron diferencias ni por grupo ni por sexo, excepto en la presión sistólica entre los hombres en la posición dorsal (Tabla 19).

No hubo cambios significativos de peso en las mujeres bajo cualquiera de los tratamientos. Para los hombres, el cambio de peso al terminar el estudio fue significativamente más elevado para el grupo con calcio en relación al grupo placebo ($P=0.05$).

La tabla 20 muestra la ingesta dietética durante el estudio por tratamiento y sexo. No hubo diferencias en cuanto a la ingesta de energía, proteínas, grasa, e hierro entre grupos durante los tres períodos estudiados. En cuanto a la ingesta de calcio, sin considerar el suplemento, fue menor en los hombres de la semana 10 a la 20 de suplementación en el grupo de tratamiento con calcio, cuando se lo comparó tanto con su nivel basal como con el del grupo placebo. No se vieron diferencias significativas entre las mujeres.

Las tablas 21 y 22 muestran los resultados de los parámetros bioquímicos evaluados en las distintas etapas del estudio para los dos sexos. No se observaron diferencias entre los grupos a excepción del calcio iónico. Tanto los hombres como las mujeres de los grupos suplementados con calcio tuvieron al final del estudio, niveles de calcio iónico significativamente más elevados con respecto a sus ni

veles basales y a los que presentaron los grupos placebo al final del estudio.

MUJERES

Se efectuaron análisis de varianza para establecer si la fase del ciclo menstrual producía cambios en la presión arterial. No se observaron diferencias, por lo que se decidió presentar los datos de presión por cada semana de estudio.

Las tablas 23 y 24 muestran las presiones arteriales en las tres posiciones estudiadas. Las figuras 7 y 8 muestran los cambios porcentuales de presión con respecto al valor basal en la posición dorsal. La disminución en los niveles de presión diastólica es más evidente, llegando a estabilizarse alrededor de la décima semana de suplementación.

La tabla 25 muestra los coeficientes de regresión calculados al relacionar los cambios porcentuales de presión con respecto al valor basal durante todo el período de suplementación. En el grupo suplementado con calcio, todos los coeficientes de regresión fueron negativos y estadísticamente diferentes de cero ($P=0.01$), no ocurriendo lo mismo en el grupo control.

Los cambios porcentuales de presión una vez establecido el período de estabilización (semana 10 en adelante), se presentan en la tabla 26. En el grupo suplementado con calcio la disminución de la presión diastólica fue de 2.85 %, 4.19 % y 5.64 % en las posiciones sentado, lateral y dorsal respectivamente.

HOMBRES

Los resultados obtenidos en hombres se muestran en las tablas 25, 27, 28 y 29 y en las figuras 9 y 10, en una forma similar a los presentados anteriormente para mujeres.

En la tabla 25, se puede ver que las pendientes son negativas y diferentes de cero para los cambios porcentuales de presión diastólica ajustados al nivel basal, en las posiciones lateral y dorsal del grupo suplementado con calcio. No hubo disminuciones significativas en la presión sistólica.

La figura 10 muestra los cambios porcentuales en la presión diastólica con respecto al tiempo de suplementación. Aquí se puede ver que la disminución en la presión parece estabilizarse a partir de la sexta semana de comenzada la suplementación con calcio. En este período de estabilización la disminución de la presión diastólica en el grupo suplementado con calcio fue de 1.8 %, 9.0 % y 9.05 % en las posiciones sentado, lateral y dorsal respectivamente.

DISCUSION

La suplementación dietética con 1 g de calcio produjo una disminución significativa en la presión arterial diastólica en individuos jóvenes de ambos sexos. Los cambios fueron más pronunciados en las posiciones decúbito lateral y dorsal que en la posición sentado. Estos efectos se estabilizaron alrededor de la décima semana en mujeres y alrededor de la sexta semana de iniciada la suplementación calcio en los hombres. La disminución de las presiones diastólicas en las posiciones decúbito con respecto a los niveles basales fueron aproximadamente de 5 % en la mujer y de 9 % en el hombre.

El mecanismo por el cual el calcio produce una disminución en la presión arterial no es claro. En experimentos efectuados tanto en animales como en humanos, se ha mostrado una disminución en la resistencia vascular sistémica al administrar calcio parenteralmente (116, 117, 118). Es probable, que el aumento del calcio plasmático, inhiba la secreción de hormona paratiroidea y como consecuencia de esto la concentración citoplasmática de calcio disminuya. Esto a nivel de la célula de músculo vascular liso, se traduciría en una reducción del tono muscular, que resultaría en una caída de la presión arterial.

Lo anterior podría explicar la caída en la presión arterial de los grupos suplementados con calcio, ya que precisamente dichos grupos (hombres y mujeres) presentaron al final del estudio niveles de calcio iónico en suero significativamente más elevados.

Se podría también pensar que los efectos de la suplementación con calcio sobre la presión arterial, se deben a un aumento de diuresis como consecuencia de mayor eliminación de sodio. Esto surge al considerar estudios que sugieren un mecanismo común de reabsorción para el calcio y sodio en el túbulo proximal (119). Sin embargo, también se ha propuesto que la reabsorción de sodio y calcio en el túbulo distal se lleva a cabo por medio de mecanismos independientes (120, 121). Por otra parte, se ha visto que diuréticos tiazídicos cuando se los administra en forma crónica, inducen natriuresis sin causar un aumento en la retención urinaria de calcio (120), lo cual sería otra evidencia que sustentaría la idea de mecanismos independientes de reabsorción. Es así que no está claro hasta que punto se ve influenciada la depuración renal debida a una sobrecarga de calcio en el organismo. Además, no parece ser que sea el riñon el órgano encargado de regular los niveles de calcio del organismo, ya que si bien existe mucha variabilidad entre individuos en la excreción diaria de calcio, esta, solo representa una proporción muy pequeña del calcio ingerido. Dicha función podría llevarse a cabo a nivel intestinal, ya que la cantidad de calcio eliminada en las heces, está

en relación con la cantidad ingerida.

En este estudio no fue posible efectuar balances de calcio, por lo que no se conoce la cantidad de calcio absorbida. No obstante ello, la disminución en la presión arterial observada en el grupo suplementado constituye un hallazgo importante que estimula a continuar la investigación en este campo.

RESUMEN

Para estudiar el efecto de la ingesta de calcio sobre la presión arterial, se efectuaron tres experimentos con animales y uno con voluntarios humanos.

Con base en los experimentos con ratas se trató de encontrar un mecanismo de acción para el efecto del calcio.

Para ver el efecto de la falta de calcio de la dieta sobre la presión arterial, se estudiaron dos grupos de ratas de diferentes edades. En ambos experimentos se vio en los grupos de ratas con dieta libre de calcio, un incremento significativo en los niveles de presión arterial. El efecto se estableció en las ratas más jóvenes a la segunda semana de dieta libre de calcio y en las ratas más viejas a la sexta semana.

Se estudió, así mismo, el efecto adicional del embarazo sobre la presión arterial de las ratas mantenidas con dietas deficientes o suficientes en calcio. No se encontró ningún efecto atribuible al embarazo.

Se estudiaron ratas paratiroidectomizadas alimentadas con dietas con y sin calcio, con el fin de establecer si la hormona paratiroidea jugaba algún papel en el mecanismo de acción del calcio. Los resultados obtenidos permitieron desarrollar un modelo de acción de PTH, que explica el efecto hipertensor de la deficiencia dietética de calcio.

Finalmente, se investigó en individuos normotensos, jóvenes de ambos sexos, el efecto de la suplementación dietética con 1 g de calcio sobre la presión arterial. Tanto en hombres como en mujeres, la suplementación con calcio se tradujo en una disminución de la presión arterial diastólica.

La importancia de estos resultados es discutida en relación a la cronicidad poblacional de bajas ingestas de calcio.

BIBLIOGRAFIA

1. Stitt FM, MD Crawford, DG Clayton, JN Morris (1973): Clinical and biochemical indicators of cardiovascular disease among men living in hard and soft water areas. Lancet 1:122-126
2. Masironi R, SR Koirtyohann, JO Pierce, RG Schamschula (1976): Calcium content of river water, trace element concentration in toenails and blood pressure in village populations in New Guinea. Science of the Total Environment 6:41-53
3. Sharrett AR, M Feinleib: (1975): Water constituents and trace elements in relation to cardiovascular disease. Prev Med 4:20-26
4. Masironi R (1970): Cardiovascular mortality in relation to radioactivity and hardness of local water supplies in the USA. Bull WHO 43:687-697
5. Crawford M, Gardner M, J Morris (1968): Mortality hardness of local water supplies. Lancet 1:827-831
6. Neri L, J Mandel, H Hewitt (1972): Relation between mortality and water hardness in Canada. Lancet 1:931-934
7. Langford HG, RL Watson (1973): Electrolytes, environment and blood pressure. Clin Sci Mol Med 45:111s-113s
8. Moraga Reyna S, JM Belizán :Valores de presión arterial en comunidades indígenas rurales de Guatemala. XXXI Congreso Nacional de Medicina. Volumen de Resúmenes pag 30, Febrero de 1981. Guatemala.
9. Belizán JM, J Villar (1980): The relationship between calcium intake and edema-proteinuria and hypertension-gestosis: an hypothesis. Am J Clin Nut 33:2202-2210
10. Brewer TH (1969): Metabolic toxemia of late pregnancy. Gynaecologia (Basel) 167:1-8
11. Tompkins WT, DG Wiehl (1951): Nutritional deficiencies as a causal factor in toxemia and premature labor. Am J Obstet Gynecol 62:898-919

12. Belizán JM, J Villar (1979): Posible papel del calcio en el desarrollo de la toxemia del embarazo. Arch Latinoam Nutr 29:39-65
13. Flores M : Food patterns in Central America and Panama. En Tradition Science and Practice in Dietetics. Proceedings of the 3rd International Congress of Dietetics, London July 10-14, 1961. Yorkshire, Great Britain Wn Byles and Sons Limited of Bradford 1961 pp 23-27
14. Braham JE, Bressani R (1966): Utilización del calcio del maíz tratado con cal. Nutr Bromatol Toxicol 5:14-19
15. U.S Interdepartmental Committee on Nutrition for National Defense. Ethiopia, September 1959 Washington DC, Department of Defense 1959.
16. Chaudhuri SK (1969): Dietetic deficiency in toxemia of pregnancy. Indian Pract 22:131-136
17. Chaudhuri SK (1969): Effect of nutrient supplement on the incidence of toxemia of pregnancy. J Obstet Gynecol (India) 19:156
18. Osofsky HJ (1975): Relationships between prenatal medical and nutritional measures, pregnancy outcome and early infant development in an urban poverty setting. Am J Obstet Gynecol 123:682-686
19. Kobayashi J (1968): On the influence of NaCl, KCl, Na₂SO₄ and Ca CO₃ on the life and blood pressure of rats. Jap J Hyg 23:106-9
20. Itokawa Y, C Tanaka, M Fujiwara (1974): Changes in body temperature and blood pressure in rats with calcium and magnesium deficiencies. J Applied Physiol 37:835-839
21. Ayachi S (1979): Increased Dietary Calcium Lowers Blood Pressure in the Spontaneously Hypertensive Rat. Metabolism 28:1234-8
22. Barry GD (1977): Effect of increased dietary calcium on the development of experimental hypertension. Fed Proc 36:492 (Abst)
23. Pitkin R, M Gebhardt (1977): Serum calcium concentration en human pregnancy. Am J Obstet Gynecol 127:775-778

24. Pitkin R (1975): Calcium Metabolism in Pregnancy: A review. Am J Obstet Gynecol 121:724-737
25. Borle A (1974): Calcium and Phosphate Metabolism. Ann Rev Physiol 36:361-390
26. Habener J, H Kronenberg (1978): Parathyroid hormone biosynthesis structure and function of biosynthetic precursors. Fed Proc 37:2561-66
27. Hollock MF, MB Clark (1978): The photobiogenesis and metabolism of vitamin D. Fed Proc 37:2567-74
28. Boyle IT, RW Gray, HF De Luca (1971): Regulation by calcium of in vivo synthesis of 1,25 dihydroxy cholecalciferol and 21,25 dihydroxy cholecalciferol. Proc Natl Acad Sci USA 68:2131-34
29. Pitkin R, W Reynolds, G Williams, G Hargis (1979): Calcium Metabolism in normal pregnancy: A longitudinal study. Am J Obstet Gynecol 133:781-90
30. Davies RE (1965): On the mechanism of muscular contraction. Essay in Biochemistry 1:29-56
31. Weber A, J Murray (1973): Molecular control mechanisms in muscle contraction. Physiol Rev 53:612-673
32. Mannherz HG, L Barrington, KC Holmes y E Rosenbaum (1973): Identification of the transitory complex Myosin-ATP by the use of alfa,beta-Methylene-ATP. Nature New Biology 241:226-229
33. Folkow B, Hallback, J Jones, M Sutter (1977): Dependence of external calcium for the noradrenaline contractility of the resistance vessels in Spontaneously Hypertensive and renal hypertensive rats, as compared with normotensive controls. Acta Physiol Scand 101:84-97
34. Seidel. CH, D Bohr (1971): Calcium and vascular smooth muscle contraction. Cir Res Supp II 29:II88 - II 95
35. Hurwitz L, D Fitzpatrick, G Debbas, E Landon (1973): Localization of calcium pump activity in Smooth muscle. Science 179:384-386

36. Tada M (1978): Molecular Mechanism of the active calcium transport by Sarcoplasmic Reticulum. *Physiol Rev* 58:1-79
37. Mela L, B Chance (1968): Spectrophotometric measurements of the kinetics of Ca^{2+} and Mn^{2+} accumulation in mitochondria. *Biochemistry* 7:4059-63
38. Drahota Z, E Cafaroli, C Rossi, R Gamble, A Lehninger (1965) : The steady state maintenance of accumulated Ca^{2+} in rat liver mitochondria. *J Biol Chem* 240:2712-20
39. Fiskum G, A Lehninger (1980): The mechanisms and regulation of mitochondrial Ca^{2+} transport. *Fed Proc* 39:2432-35
40. Nicholls D (1978): The regulation of extramitochondrial free calcium ion concentration by rat liver mitochondria. *Biochem J* 176:463-474
41. Ramachandran C, F Bygrave (1978): Calcium Ion Cycling in Rat Liver Mitochondria. *Biochem J* 174: 613-620
42. Racker E (1980): Fluxes and Concepts. *Fed Proc* 39:2432-36
43. Waugh W (1962): Role of calcium in contractile excitation of vascular smooth by epinephrine and potassium. *Cir Res* 11:927-40
44. Briggs A, S Melvin (1961): Ion movements in isolated rabbit aortic strips. *Amer J Physiol* 201:365-368
45. Hudgins P, G Weiss (1967): Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by nor epinephrine, histamine and potassium. *J Pharmacol Exp Ther* 159:91-94
46. Means A, Dedman J (1980): Calmodulin-an intracellular calcium receptor. *Nature* 285:73-77
47. Larsen F, F Vincenzi (1979): Calcium transport across the plasma membrane: Stimulation by Calmodulin. *Science* 204:306-309
48. Jeng A, T Ryan, A Shamoo (1978): Isolation of a low molecular weight Ca^{2+} Carrier from Calf Heart Inner Mitochondrial Membrane, *Proc Natl Acad Sci USA* 75:2125-29
49. Aoki K, K Yamashita, N Tomita, K Tazumi, K Hotta (1974): ATPase

Activity and Ca^{2+} binding ability of subcellular membrane of arterial smooth muscle in Spontaneously Hypertensive Rat. Jap Heart J 15:180-181

50. Martonosi A (1980) : The biosynthesis of Sarcoplasmic Reticulum Fed Proc 39:2415-21
51. Bhalla R (1978): Calcium fluxes, calcium binding and adenosine cyclic 3'5' Monophosphate Dependent Protein Kinase Activity in the Aorta of Spontaneously Hypertensive Rats. Mol Pharmacology 14: 468-77
52. Folkow B, M Hallback, J Jones, M Sutter (1976): Effects of nor adrenaline on consecutive vascular segments at low or normal calcium concentrations in control and spontaneously hypertensive rats. Clin Science and Mol Medicine 51:53s-55s
53. Bohr D, K Bereck (1976): Relevance of vascular structural and smooth muscle sensitivity changes in hypertension. Aust N Z J Med Suppl 2, 6: 26-34
54. Limas C, J Cohn (1977): Defective calcium transport by cardiac sarcoplasmic reticulum in Spontaneously Hypertensive Rats. Cir Res Suppl I,40: I62-I69
55. Bhalla R, T Ashley (1978): Altered function of adenylate cyclase in the Myocardium of the Spontaneously Hypertensive Rat. Bioch Pharmacol 27: 1967-71
56. Aoki K (1974): ATPase activity and Ca^{2+} interaction of Myofibrils and Sarcoplasmic reticulum isolated from the hearts of spontaneously hypertensive rats. Jap Heart J 15:475-484
57. Moore L, L Hurwitz, G Rodman, E Landon (1975) : Energy-Dependent calcium uptake activity of microsomes from the aorta of normal and hypertensive rats. Bioch et Bioph Acta 413:432-43
58. Canessa M, N Adragna, HS Solomon, TM Connolly, DC Tosteson (1980) Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. N Eng J Med 3:772-76
59. Blaustein MP (1977); Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: a reassessment and hypothesis. Am J Physiol 232: C 165-73

60. Renaud S (1980): Effects of diet on blood clotting and platelet aggregation. En Western Hemisphere Nutrition Congress VI, August 10-14, 1980, Los Angeles, California. Symposia Abstracts p 45
61. Peart WS (1977): The Kidney as an endocrine organ. Lancet 2:543-7
62. Kotchem TA, KI Maull, R Luke, D Rees, N Flamenbaun (1974) : Effect of acute and chronic calcium administration on plasma renin. J Clin Invest 54: 1279-86
63. Lands WE (1979): The biosynthesis and metabolism of prostaglandins. Ann Rev Physiol 41:633-650
64. Betteridge A (1980): Role of Ca^{2+} and cyclic nucleotides in control of prostaglandin E production in the rat anterior pituitary gland. Biochem J 186:987-992
65. Prostaglandin: Physiological, Pharmacological and Pathological Aspects. Edited by SM Karin University Park Press 1976 pp153
66. Larsson C, E Anggard (1973): Arachidonic acid lowers and indomethacin increases the blood pressure of the rabbit. J Pharm Pharmacol 25:653-58
67. Hornyach A, London G, Safar, Y Weiss, A Simon (1980). En Advances in Prostaglandins and Thromboxane Research Vol 7, p 1119-22
68. Demers L, Gabbe S (1976): Placental prostaglandin levels in pre-eclampsia. Am J Obstet Gynecol 126:137-9
69. Renuzzi G, D Marchesi (1980): Reduced Umbilical and placental vascular Prostacyclin in severe pre-eclampsia. Prostaglandins 20:105-110
70. Cohen M, J Sztokalo, E Hinseh (1973): The antihypertensive action of arachidonic acid in the spontaneous hypertensive rat and its antagonism by anti-inflammatory agents. Life Sci 13: 317-321
71. Oates JA, R Whorton, JF Gerkens (1979): The participation of prostaglandins in the control of renin release. Fed Proc 38: 72-74

72. Gardner DG, EM Brown (1978): Prostaglandin E₂ stimulation of Adenosine 3'5' monophosphate accumulation and parathyroid hormone release in bovine parathyroid cells. Endocrinology 104: 577-582
73. _____ (1979): Prostaglandin F₂ inhibits 3'5' adenosine monophosphate accumulation and parathyroid release from dispersed bovine parathyroid cells. Endocrinology 104:1-7
74. Borle AB, T Uchikawa (1978): Effects of parathyroid hormone on the distribution and transport of calcium in cultured kidney cells. Endocrinology 102:1725-32
75. Dziak R, P Stern (1975): Calcium transport in isolated bone cells. III Effects of parathyroid hormone and cyclic 3'5'AMP. Endocrinology 97:1281-87
76. Chausmer AB, BS Sherman, S Wallach (1972): The effect of parathyroid hormone on hepatic cell transport of calcium. Endocrinology 90:663-672
77. Borle AB (1968): Calcium metabolism in HeLa cells and the effects of parathyroid hormone. J Cell Biol 36:567-582
78. Rosenthal FD, S Ray (1972): Hypertension and hyperparathyroidism. Br Med J 4:396-397
79. Borle A (1973): Calcium metabolism at the cellular level. Fed Proc 32:1944-50
80. Rasmussen H (1970): Cell communication, Calcium Ion and Cyclic Adenosine Monophosphate. Science 170:404-412
81. Berthelot A, C Miss Pages, A Gairard (1977): Métabolisme calcique et hypertension minéralocorticoïde: effets de la parathormone et de la thyrocalcitonine exogènes et des variations de l'apport en calcium et en magnésium. C R Soc Biol (Paris) 171:1101-06
82. Buckle R, A Care, C Cooper, H Gitelman (1968): The influence of plasma magnesium concentration on Parathyroid hormone secretion. J Endocrinol 42:529-534

83. Sherwood L, J Potts, A Mayer, G Aurbach (1966): Evaluation by Radioimmunoassay of factors controlling the secretion of parathyroid hormone. *Nature* 209:52-57
84. Berthelot A, A Gairard (1980): Parathyroid hormone and deoxycorticosterone acetate-induced hypertension in the rat. *Clin Sci* 58:365-371
85. Hegsted DM, CD Mills, C Elvehjem, E Hart (1941): Choline in the nutrition of chicks. *J Biol Chem* 138:459-63
86. Manna L, SM Hange (1953): A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. *J Biol Chem* 202:91-96
87. Casewell MW, RH Fennell (1970): Supernumerary structures in the neck and thymus of parathyroidectomized rats and their relationship to recovery from hypocalcemia. *Br J exp Path* 51:197
88. Johansson H, A Segerstrom (1972): The effect of Parathyroidectomy on the Gastrointestinal propulsive motility in the rat. *Acta Chir Scand* 138:397-407
89. Pitkin RM, Reynolds, GA Williams, GK Hargis (1978): Calcium regulating hormones during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 47:626-630
90. Buñag R (1973): Validation in awake rats of a tail-cuff method for measuring systolic pressure. *J Applied Physiol* 34:279-82
91. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 12 th edition, 1975 p.130(7010), p.140(7080a), p.417(24003)
92. Kirkbright GF, M Sargent (1974): Practical techniques of atomic absorption and fluorescence spectroscopy. En: *Atomic Absorption and Fluorescence Spectroscopy*, GF Kirkbright, editor Academic Press, NY, pp 507-540
93. Schwartz HD, BD Mc Conville, EF Christopherson (1971): Serum Ionized Calcium by Specific Ion Electrode. *Clin Chim Acta* 31 97-99
94. Zeisler EB (1954): Determination of diffusible serum calcium. *Am J Clinical Pathol* 24: 588-593.

95. Merck (1978): Clinical Laboratory, 11th Edition of Medico-chemical Investigation Methods pp 78-80
96. Londerback A, E Mealey, N Taylor (1968): A new dye-binding technique using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 14:793-794
97. Wolf AV, J Fuller, Goldman, TD mahomy (1962): New refractometry methods for the determination of total proteins in serum and in urine. Clin Chem 8:158-165
98. Winer BJ (1971): Multifactor Experiments having repeated measures on the same elements. En: Statistical Principles in Experimental Design, Mc Graw Hill, NY, pp 514-603
99. Lyman Ott (1981): Multiple Comparisons. En: An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis, Duxbury Press, Ma, pp 396-398
100. Zamorano B, A Terragno, J Mc Giff, N Terragno (1980): A prostaglandin mechanism may contribute to the regulation of blood pressure in Spontaneously Hypertensive Rats during Pregnancy Adv Prostag and Thromboxane Res Vol 7:807-810
101. Graves K, IR Wolinsky (1980): Calcium and Phosphorus Metabolism in Pregnant Rats Ingesting a High Protein Diet. J Nutr 110: 2420-2432.
102. Lyman Ott (1981): Introduction to the Analysis of Variance: one way classification. En: An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis, Duxbury Press, Ma, pp 354-368.
103. Lyman Ott (1981): Multiple Comparisons. En Introduction to Statistical Methods and Data Analysis, Duxbury Press, Ma, pp 389-92
104. Gairard A, A Berthelot, R Schleiffer, F Pernot (1982): Parathyroidectomy significantly decreases hypertension in spontaneously hypertensive and deoxy corticosterone plus saline treated rats. Can J Physiol Pharmacol 60:208-212
105. Wright GL, MA Toraason, JS Barbe, W Crouse (1980): The concentration of ionic and total calcium in plasma of the spontaneously hypertensive rat. Can J Physiol Pharmacol 58:1494-99

106. Mc Carron DA, N Yung, B Ugoletz, S Krutzik (1980): Serum PTH and ionized calcium levels in the spontaneously hypertensive rat and the effect of dietary calcium. Clin Res 98:334-337A
107. _____ (1981): Disturbances of calcium metabolism in the spontaneously hypertensive rat. Hypertension 3 (suppl 1) I-162- I-167
108. Tobian L, G Chesley (1966): Calcium content of arteriolar walls in normotensive and hypertensive rats. Proc Soc Exp Biol Med 121: 340-343
109. Furuta Y, (1977): Studies on sodium and calcium content of cardiovascular tissue in experimental hypertension. Jpn Circ J 41:19-28
110. Jones AW, RG Hart (1975): Altered ion transport in aortic smooth muscle during deoxyacetate hypertension in rat. Cir Res 37: 333-341
111. Garabedian M, MF Hollock, HF De Luca, IT Boyle (1972): Control of 25-hydroxy cholecalciferol metabolism by parathyroid glands. Proc Nat Acad Sci USA 69:1673-76
112. Larsson S, O Ahlgren (1975): The role of the parathyroids for the adaptation to a low calcium intake. Acta Path Microbiol Scand Sect A 83:603-614
113. Favus MJ, MW Walling, DV Kimber (1974): Effects of dietary calcium restriction and chronic thyroparathyroidectomy on the metabolism of ³H 25-hydroxy vitamin D₃ and the action transport by rat intestine. J Clin Invest 53:1139-1148
114. Larsson SE; (1969): On the development of osteoporosis. Experimental studies in the adult rat. Acta Orthop Scand Suppl 20
115. Ahlgren O, SE Larsson (1975): The role of parathyroids for the adaptation to a low calcium intake. Acta Path Microbiol Scand Sect A 83:13-24
116. Feinberg H, E Boyd, LN Katz (1962): Calcium effect on performance of the heart. Am J Physiol 202:643-48

117. Stanley TH, J Isern-Amaral, WS Liu, JK Lunn, S Gentry (1976):
Peripheral vascular versus direct cardiac effects of calcium
Anesthesiology 45: 46-58
118. Denlinger JK, JA Kaplan, JH Lecky (1975): Cardiovascular responses to calcium administered intravenously to man during halothane anesthesia. Anesthesiology 42:390-397.
119. Lassiter WE, CW Gottschalk, M Mylle (1963): Micropuncture study of renal tubular reabsorption of calcium in normal rodents. Am J Physiol 204: 771-775.
120. Popovtzer MM (1976): Disorders of calcium, phosphorus, vitamin D and parathyroid hormone activity. In: Renal and Electrolyte disorders. RW Schrier, editor. Little, Brown Boston. Ch 6 p 167
121. Agus ZS, LB Gardner, LH Beek, Goldberg (1973): Effects of parathyroid hormone on renal tubular reabsorption of calcium, sodium and phosphate. Am J Physiol 224:1143-48

TABLA 2

INCIDENCIA DE ECLAMPSIA, PREECLAMPSIA Y DIETA HABITUAL EN DIFERENTES PAISES
(Tomado de Belizán y Villar (11))

	Guatemala		Estados Unidos	Colombia	Etiopía
	Rural	Urbana			
Incidencia de preeclampsia ‰	0.6	4.5	7.4	-	0.75
Incidencia de eclampsia ‰		0.44	0.5	1.59	-
Dieta diaria:					
Energía (Kcal)	2,243	1,727	3,200	1,661	2,512
Proteínas (g)	66	53	97	41	65
Calcio (mg)	1,320	786	1,030	240	1,075
Hierro (mg)	23	18	17	12	430
Vitamina A (UI)	1,682	1,300	2,190	1,607	2,900
Tiamina (mg)	1.4	0.9	1.5	0.7	2.7
Rivoflavina (mg)	0.7	0.7	2.3	0.6	0.8
Acido Nicotínico (mg)	12.2	8.8	18	10.3	-
Vitamina C (mg)	35	38	86	83	34

TABLA 3

RELACION ENTRE LA INCIDENCIA DE ECLAMPSIA Y LA INGESTA DE CALCIO
(Tomado de Belizán y Villar (11))

País	Calcio en la dieta mg/día/persona	Incidencia de eclampsia ‰ de nacidos
Colombia	240	1.59
Tailandia	266	4.8
Jamaica	345	2.5
India	347	12
Japón	368	Alta incidencia
Israel	884	0.7
Reino Unido	1,000	0.9
Etiopía	1,075	0.9
Estados Unidos	1,100	0.5
Guatemala	1,100	0.4

TABLA 4

COMPOSICION DE LA DIETA

	Grupo control	Grupo de dieta libre de calcio
	%	%
Caseina	18	18
Aceite de soya	10	10
Almidón	65	65
Celulosa	2	2
Aceite de hígado de bacalao	1	1
Mezcla de Minerales* (85)	4	4
Mezcla de Vitaminas** (86)	5	5
Contenido energético	1.77 MJ (422 Kcal)/100 g de dieta	
Concentración de calcio y magnesio observada (mg/100 g dieta) X ± DS		
Calcio	592 ± 25.8	No detectable
Magnesio	54.8 ± 4.9	55.5 ± 2.0

* En el Grupo Control (mg/100 g de dieta): CaCO₃ 1,173 ; CaHPO₄ 293 ; CuSO₄ 1.1 ; FeSO₄ 107 ; MgSO₄ 300 ; KI 3.1 ; K₂HPO₄ 1,260 ; NaCl 655 ; ZnCl₂ 0.9

En el grupo de dieta libre de calcio lo mismo con la excepción de la ausencia de CaCO₃ y CaHPO₄.

**Mezcla de vitaminas (mg/100 g de dieta) : tiamina 3 ; rivo flavina 3 ; piridoxina 3 ; pantotenato de calcio 10 ; niacina 5 ; biotina 0.01 ; ácido fólico 0.02 ; inositol 40 ; vitamina K 1 ; vitamina B₁₂ 0.03 ; vitamina A y E están contenidas en el aceite de hígado de bacalao. Las vitaminas disueltas en alcohol fueron agregadas al final. No se consideró el cambio en peso de la dieta.

TABLA 6**EFFECTO DEL CONTENIDO DE CALCIO DE LA DIETA SOBRE LA PRESION ARTERIAL EN RATAS DE 90 DIAS**

Dieta		SEMANAS					
		0	1	2	3	4	5
Con calcio n = 18	X	107	87	118	118	118	114
	DS	9.8	12.8	7.8	9.8	10.4	11.4
	ES	2.3	3.0	1.8	2.3	2.4	2.7
Sin calcio n = 20	X	108	91	123	124	125	123
	DS	12.6	13.4	13.9	10.8	7.3	8.5
	ES	2.8	3.0	3.1	2.4	1.6	1.9

TABLA 7**EFFECTO DE LA DIETA SOBRE LAS DETERMINACIONES BIOQUIMICAS EN RATAS DE 90 DIAS**

		Dieta con calcio	Dieta libre de calcio
		n=18	n=20
Calcio total (mg/dl)	X	10.40	9.95*
	DS	0.37	0.41
	ES	0.08	0.09
Calcio iónico (mg/dl)	X	6.43	5.80*
	DS	0.35	0.41
	ES	0.08	0.09
Proteinas totales (g/dl)	X	6.57	6.55
	DS	0.41	0.40
	ES	0.09	0.09

* Diferencias significativas con respecto al grupo con calcio (P=0.001)

TABLA 8

EFFECTO DEL CONTENIDO DE CALCIO EN LA DIETA SOBRE LA PRESION ARTERIAL PREAPAREAMIENTO EN RATAS DE 140 DIAS

Dieta		SEMANAS									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Con calcio n = 18	X	123	120	127	124	111	123	123	113	116	117
	DS	9.3	9.8	10.7	7.9	5.9	6.5	7.6	4.7	4.0	4.5
	ES	2.2	2.3	2.5	1.9	1.4	1.5	1.8	1.1	0.9	1.1
Sin calcio n = 16	X	123	123	121	125	126	126	134	132	135	134
	DS	8.3	11.2	13.0	11.3	10.3	9.7	9.9	9.8	6.0	7.0
	ES	2.1	2.8	3.2	2.8	2.5	2.4	2.5	2.5	1.5	1.8

TABLA 9

EFFECTO DEL CONTENIDO DE CALCIO DE LA DIETA SOBRE LA PRESION ARTERIAL POSTAPAREAMIENTO EN RATAS DE 140 DIAS

		Días postapareamiento						
		1	7	14	17	18	20	
<u>Dieta cop</u> <u>Calcio</u>	Embarazadas	X	117	112	116	116	115	101
	n = 5	DS	4.4	9.0	11.5	3.4	8.1	12.3
		ES	2.0	4.0	5.2	1.5	3.6	5.5
	No embarazadas	X	118	120	121	118	121	125
	n = 13	DS	5.0	3.4	4.9	8.2	6.2	8.4
		ES	1.4	0.9	1.4		1.9	2.3
<u>Dieta libre</u> <u>de Calcio</u>	Embarazadas	X	136	135	128	130	132	122
	n = 6	DS	6.4	8.6	6.7	9.4	3.2	17.4
		ES	2.6	3.5	2.7	3.8	1.3	7.0
	No embarazadas	X	133	136	131	134	136	131
	n = 10	DS	8.2	6.0	9.5	12.0	5.0	9.0
		ES	2.6	1.9	3.0	3.8	1.6	3.0

TABLA 10

EFFECTO DEL CONTENIDO DE CALCIO DE LA DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO EN RATAS DE 140 DIAS

(peso en g.)

Dieta		Semana 0	Semana 9	Semana 12	
				No embarazo	Embarazo
Con Calcio	X	237	251	251	321
	DS	18.6	19.5	10.4	16.0
	ES	4.4	4.6	2.9	7.2
	n	18	18	13	5
Libre de Calcio	X	231	245	243	302
	DS	14.2	15.6	18.7	22.5
	ES	3.5	3.9	5.9	9.2
	n	18	16	10	6

TABLA 11

EFECTO DE LA DIETA DURANTE EL EMBARAZO EN RATAS DE 140 DIAS
(peso en gramos)

Grupo		Ganancia total de peso de la rata	Peso de útero + placenta + fetos	Peso de útero + placenta	Ganancia total de peso - peso de emba razo	Número total de fetos	Peso promedio de fetos
Con Calcio n = 5	X	70.2	44.8	18.8	25.4	10.8	2.4
	DS	4.5	10.7	3.1	9.5	2.2	0.5
	ES	2.0	4.8	1.4	4.3	1.0	0.2
Sin Calcio n = 6	X	59.3	30.0*	12.4*	29.3	6.5*	2.6
	DS	15.9	14.0	5.1	9.2	3.3	0.4
	ES	6.5	5.7	2.1	3.8	1.3	0.2

* Diferencia significativa con respecto al grupo con Calcio (P = 0.05)

TABLA 12

EFFECTO DE LA DIETA DURANTE EL EMBARAZO EN RATAS DE 140 DIAS

GRUPO		Número total de fetos	Peso promedio de fetos g	Gramos de calcio por 100 ^l g de feto	Calcio en todos los fetos mg	Calcio por feto mg
Con Calcio n = 5	X	10.8	2.4	0.130	35.4	3.20
	DS	2.2	0.5	0.02	16.2	1.09
	ES	1.0	0.2	0.009	7.2	0.49
Sin Calcio n = 6	X	6.5*	2.6	0.140	24.1	3.66
	DS	3.3	0.4	0.02	12.9	1.06
	ES	1.3	0.2	0.008	5.2	0.43

* Diferencia significativa con respecto al grupo con Calcio (P = 0.05)

TABLA 13

EFFECTO DE LA DIETA Y DEL EMBARAZO SOBRE LAS DETERMINACIONES BIOQUIMICAS EN RATAS DE 140 DIAS

DIETA	SUERO							HUESO
	Calcio Total mg/dl	Proteínas totales g/dl	Calcio Iónico Calculado mg/dl	Magnesio mg/dl	Relación Ca/Mg	Fósforo Inorgánico mg/dl	Calcio total g / 100 g de hueso húmedo	
No Embarazadas n = 13	X	10.26	6.66	4.69	2.21	4.70	4.58	15.5
	DS	0.87	0.34	0.42	0.33	0.53	1.12	0.88
Con Calcio Embarazadas " n = 5	X	9.72	5.65	4.85	2.04	4.78	4.37	16.0
	DS	0.35	0.53	0.33	0.20	0.38	0.98	2.12
Sin Calcio No Embarazadas n = 10	X	9.76	6.34	4.57	2.45	4.04	5.94	14.4
	DS	0.72	0.46	0.36	0.30	0.63	1.46	1.58
Sin Calcio Embarazadas n = 6	X	9.73	6.04	4.68	2.24	4.38	5.63	12.6
	DS	0.50	0.35	0.29	0.24	0.43	1.10	1.69
Efecto de la dieta	F	0.88	0.06	1.04	3.97	7.42	8.49	17.02
	P	NS	NS	NS	NS	0.01	0.01	0.001
Efecto del embarazo	F	1.16	18.91	1.01	3.17	1.21	0.33	1.48
	P	NS	0.001	NS	NS	NS	NS	NS
Interacción dieta por tratamiento	F	0.94	5.48	0.04	0.03	0.44	0.01	4.45
	P	NS	0.02	NS	NS	NS	NS	0.05

TABLA 14

EFFECTO DE LA PARATIROIDECTOMIA Y DE LA DIETA SOBRE LA PRESION ARTERIAL EN RATAS

SEMANAS

GRUPO		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sin Paratiroides	X	119	106	110	115	114	105	105	109	109	116	108
Sin Calcio	DS	6.0	7.8	9.6	7.2	8.1	15.6	7.1	6.3	5.1	6.8	8.6
n = 9	ES	2.0	2.6	3.2	2.4	2.7	5.2	2.4	2.1	1.7	2.3	2.9
Sin Paratiroides	X	117	122	115	124	122	119	118	119	119	120	119
Con Calcio	DS	8.9	8.2	9.2	7.8	10.7	8.2	9.7	8.8	11.5	10.4	7.6
n = 9	ES	3.0	2.7	3.1	2.6	3.5	2.7	3.2	2.9	3.8	3.4	2.5
Control	X	120	118	117	119	118	121	120	120	123	124	121
Sin Calcio	DS	4.9	8.2	6.2	8.1	10.8	7.5	5.3	2.5	5.7	7.6	6.4
n = 9	ES	1.6	2.7	2.1	2.7	3.6	2.5	1.8	0.8	1.9	2.5	2.1
Control	X	119	122	121	125	118	115	118	117	113	114	113
Con Calcio	DS	6.1	5.1	8.9	7.7	8.4	6.2	5.4	6.5	6.8	6.9	9.3
n = 9	ES	2.0	1.7	3.0	2.6	2.8	2.1	1.8	2.2	2.3	2.3	3.1

TABLA 15

CAMBIOS EN LA PRESION ARTERIAL ENTRE LOS VALORES FINAL E INICIAL

		Dieta con Calcio	Dieta sin Calcio
Ratas con paratiroides	X DS n	-6.55 ^a 5.83 9	-0.67 ^b 6.26 9
Ratas sin paratiroides	X DS n	1.22 ^c 5.14 9	-10.78 ^d 8.97 9

b ≠ d y c ≠ d Prueba de Tukey

TABLA 16

EFFECTO DE PARATIROIDECTOMIA Y DE LA DIETA SOBRE EL PESO CORPORAL EN RATAS (g)

GRUPO		SEMANAS										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sin Paratiroides Sin Calcio n = 9	X	164	143	154	162	163	163	159	159	160	158	159
	DS	6.8	7.4	8.6	8.6	8.0	6.4	5.0	4.5	7.0	4.6	6.6
	ES	2.3	2.5	2.9	2.9	2.7	2.1	1.7	1.5	2.3	1.5	5.6
Sin paratiroides Con Calcio n = 9	X	164	167	180	197	202	212	214	220	225	230	231
	DS	10.4	20.2	14.1	12.7	20.1	16.5	18.2	17.8	19.2	15.9	16.7
	ES	3.5	6.7	4.7	4.2	6.7	5.5	6.1	5.9	6.4	5.3	5.6
Control Sin Calcio n = 9	X	171	182	190	201	210	219	221	226	230	232	236
	DS	8.7	9.3	8.3	5.6	6.1	7.5	6.2	5.6	6.8	6.0	5.8
	ES	2.9	3.1	2.8	1.9	2.0	2.5	2.1	1.9	2.3	2.0	1.9
Control Con Calcio n = 9	X	170	181	188	200	209	216	220	227	232	234	238
	DS	8.1	8.1	4.9	5.3	6.7	7.4	7.2	7.2	7.8	9.0	9.0
	ES	2.7	2.7	1.6	1.8	2.2	2.5	2.4	2.4	2.6	3.0	3.0

TABLA 17

EFFECTO DE PARATIROIDECTOMIA Y DE DIETA SOBRE LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS EN SUERO

		Calcio Total mg/dl Semana 0	Calcio Total mg/dl Semana 10	Magnesio mg/dl Semana 10	Fósforo Inorgánico mg/dl Semana 10	Proteínas totales g/dl Semana 10
Sin Paratiroides	X	7.80	5.40	1.60	11.94	7.13
Sin Calcio	DS	0.44	2.11	0.41	1.62	0.51
n = 9	ES	0.15	0.70	0.14	0.54	0.17
Sin Paratiroides	X	7.69	8.31	1.85	10.01	6.73
Con Calcio	DS	0.54	1.57	0.32	2.50	0.32
n = 9	ES	0.18	0.52	0.11	0.83	0.11
Control	X	11.09	11.50	2.27	6.97	6.63
Sin Calcio	DS	0.55	2.18	0.58	0.87	0.21
n = 9	ES	0.18	0.35	0.19	0.29	0.07
Control	X	11.07	11.13	1.65	6.41	7.19
Con Calcio	DS	0.45	1.52	0.15	1.27	0.26
n = 9	ES	0.15	0.20	0.05	0.42	0.09
Efecto de la dieta	F		3.08	1.45	5.01	0.46
	P		NS	NS	0.03	NS
Efecto de la paratiroidectomía	F	149	37.9	3.7	59	0.03
	P	0.00001	0.00001	NS	0.00001	NS
Interacción dieta x paratiroidectomía	F		5.1	1.5	1.5	3.2
	P		0.03	NS	NS	NS

TABLA 18

EFEECTO DE PARATIROIDECTOMIA Y DE LA DIETA SOBRE EL CONTENIDO DE MINERALES EN HUESO

		Calcio Total Gramos/100 g hueso húmedo	Calcio Total por fémur mg	Fósforo Inorgánico Gramos/100 g hueso húmedo	Fósforo Inorgánico por fémur mg	Peso hueso húmedo mg
Sin Paratiroides	X	14.8	74.2	6.6	32.8	497.9
Sin Calcio	DS	1.3	12.1	0.5	5.2	96.6
n = 9	ES	0.4	4.0	0.2	1.7	32.2
Sin Paratiroides	X	15.4	117.9	7.2	50.9	705.8
Con Calcio	DS	0.9	21.8	0.5	5.9	92.5
n = 9	ES	0.3	7.3	0.2	2.0	30.8
Control	X	12.5	86.4	5.4	37.3	700.5
Sin Calcio	DS	1.4	8.6	0.6	2.2	64.9
n = 9	ES	0.5	2.9	0.2	0.7	21.6
Control	X	14.8	111.7	6.3	47.5	756.8
Con Calcio	DS	1.4	26.3	1.1	6.9	76.2
n = 9	ES	0.5	8.8	0.4	2.3	25.4
Efecto de la dieta	F	6.76	30.97	9.64	60.2	21.59
	P	0.01	0.00001	0.004	0.00001	0.0002
Efecto de la paratiroidectomía	F	8.09	0.2	19.2	0.09	17.3
	P	0.008	NS	0.0003	NS	0.0005
Interacción dieta x paratiroidectomía	F	0.15	2.1	0.37	2.7	5.87
	P	NS	NS	NS	NS	0.02

TABLA 19

PARAMETROS EVALUADOS DURANTE EL PERIODO BASAL (X + DS)

	MUJERES		HOMBRES	
	PLACEBO n = 14	CALCIO n = 15	PLACEBO n = 13	CALCIO n = 15
EDAD (años)	23.6 ± 4.4	24.0 ± 4.9	25.8 ± 4.7	25.7 ± 4.0
PESO INICIAL (Kg)	47.4 ± 6.7	53.5 ± 7.6	63.0 ± 9.8	65.6 ± 8.2
PRESION ARTERIAL SISTOLICA POSICION DORSAL (mmHg)	100.2 ± 6.0	104.1 ± 6.7	109.0 ± 7.0	117.8 ± 8.5*
PRESION ARTERIAL DIASTOLICA POSICION DORSAL (mmHg)	67.5 ± 3.9	69.0 ± 5.3	68.1 ± 8.8	74.1 ± 7.7
CALCIO TOTAL SERICO (mg/dl)	9.6 ± 0.3	9.5 ± 0.4	9.5 ± 0.2	9.7 ± 0.3
MAGNESIO SERICO (mg/dl)	1.53 ± 0.2	1.54 ± 0.1	1.47 ± 0.1	1.52 ± 0.1
FOSFORO INORGANICO (mg/dl)	4.3 ± 0.6	4.2 ± 0.5	4.5 ± 0.6	4.7 ± 0.4
ALBUMINA (g/dl)	4.5 ± 0.4	4.4 ± 0.3	4.8 ± 0.5	4.7 ± 1.1
CALCIO IONICO CALCULADO (mg/dl)	4.1 ± 0.16	4.1 ± 0.14	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.1
RELACION Ca / Mg	6.3 ± 0.5	6.2 ± 0.3	6.5 ± 0.4	6.4 ± 0.4
PROTEINAS TOTALES (g/dl)	7.4 ± 0.4	7.5 ± 0.5	7.5 ± 0.4	7.7 ± 0.4

* Diferencia significativa con respecto al grupo placebo (P = 0.05)

TABLA 20

INGESTA DIETETICA DIARIA A LOS DISTINTOS PERIODOS DE ESTUDIO (X + DS)**

NUTRIENTE	GRUPO	MUJERES			HOMBRES		
		Basal	Ciclos menstruales durante la suplementación		Basal	Semanas durante la suplementación	
			01-02	03-05			
ENERGIA (Kcal)	PLACEBO	1595 ± 310	1594 ± 291	1627 ± 305	2226 ± 459	2231 ± 440	2193 ± 448
	CALCIO	1701 ± 438	1710 ± 579	1663 ± 591	2109 ± 515	1867 ± 590	1836 ± 416
PROTEINAS (g)	PLACEBO	63.3 ± 19.1	57.1 ± 9.9	56.1 ± 13.7	80.7 ± 27.7	76.2 ± 19.0	83.0 ± 20.1
	CALCIO	60.9 ± 16.2	61.6 ± 25.4	59.1 ± 25.8	77.1 ± 27.3	62.6 ± 22.5	68.6 ± 24.0
GRASA (g)	PLACEBO	43.8 ± 14.2	46.6 ± 11.0	45.1 ± 14.6	45.8 ± 19.4	57.0 ± 9.6	50.7 ± 14.4
	CALCIO	48.3 ± 13.3	51.4 ± 16.8	50.4 ± 16.9	55.2 ± 17.5	46.1 ± 20.7	47.9 ± 15.4
CALCIO (mg)	PLACEBO	616 ± 287	581 ± 215	518 ± 205	779 ± 327	749 ± 381	762 ± 328
	CALCIO	615 ± 177	683 ± 311	626 ± 294	803 ± 353	629 ± 248	528 ± 209*
HIERRO (g)	PLACEBO	13.9 ± 4.2	12.3 ± 2.2	13.1 ± 3.5	19.1 ± 7.1	17.8 ± 6.0	18.9 ± 6.0
	CALCIO	14.5 ± 5.2	12.8 ± 4.5	11.8 ± 4.8	19.5 ± 6.5	16.5 ± 4.9	15.9 ± 5.5

* Diferencia significativa con respecto al valor basal y al del grupo placebo en el mismo período de tiempo (P=0.05)

** No está incluido el suplemento de calcio

TABLA 21

MUJERES: DETERMINACIONES BIOQUIMICAS EN SUERO A LOS DISTINTOS PERIODOS ESTUDIADOS (X + DS)

	GRUPOS PLACEBO			GRUPOS CALCIO		
	BASAL	SUPLEMENTACION		BASAL	SUPLEMENTACION	
	n = 14	Ciclo 3 n = 14	Ciclo 6 n = 9	n = 15	Ciclo 3 n = 15	Ciclo 6 n = 11
CALCIO TOTAL mg/dl	9.58 ± 0.35	9.56 ± 0.30	9.56 ± 0.33	9.51 ± 0.43	9.44 ± 0.37	9.80 ± 0.34
CALCIO IONICO CALCULADO mg/dl	4.11 ± 0.16	4.11 ± 0.11	4.06 ± 0.12	4.06 ± 0.14	4.10 ± 0.14	4.20 ± 0.15*
MAGNESIO mg/dl	1.53 ± 0.16	1.56 ± 0.09	1.51 ± 0.08	1.54 ± 0.09	1.54 ± 0.06	1.52 ± 0.06
RELACION Ca / Mg	6.30 ± 0.54	6.12 ± 0.34	6.33 ± 0.43	6.20 ± 0.32	6.14 ± 0.29	6.45 ± 0.35
FOSFORO INORGANICO mg/dl	4.31 ± 0.61	4.29 ± 0.40	4.19 ± 0.33	4.20 ± 0.50	4.01 ± 0.60	3.91 ± 0.50
PROTEINAS TOTALES g/dl	7.38 ± 0.42	7.37 ± 0.37	7.51 ± 0.36	7.45 ± 0.50	7.24 ± 0.50	7.42 ± 0.42
ALBUMINA g/dl	4.53 ± 0.38	4.49 ± 0.43	4.55 ± 0.55	4.40 ± 0.32	4.38 ± 0.55	4.43 ± 0.49

* Diferencia significativa con respecto al valor basal y al del grupo placebo en el mismo período de tiempo (P=0.05)

TABLA 22

HOMBRES: DETERMINACIONES BIOQUIMICAS EN SUERO A LOS DISTINTOS PERIODOS ESTUDIADOS (X + DS)

	GRUPOS PLACEBO			GRUPOS CALCIO		
	BASAL	SUPLEMENTACION		BASAL	SUPLEMENTACION	
	n = 13	Semana 8 n = 13	Semana 20 n = 10	n = 15	Semana 8 n = 15	Semana 20 n = 13
CALCIO TOTAL mg/dl	9.53 ± 0.20	9.59 ± 0.19	9.72 ± 0.19	9.74 ± 0.29	9.83 ± 0.34	9.79 ± 0.35
CALCIO IONICO CALCULADO mg/dl	4.05 ± 0.14	4.07 ± 0.17	4.06 ± 0.14	4.09 ± 0.14	4.17 ± 0.18	4.19 ± 0.16*
MAGNESIO mg/dl	1.47 ± 0.09	1.49 ± 0.08	1.48 ± 0.13	1.52 ± 0.10	1.53 ± 0.07	1.46 ± 0.10
RELACION Ca / Mg	6.49 ± 0.44	6.47 ± 0.36	6.63 ± 0.63	6.42 ± 0.37	6.45 ± 0.32	6.71 ± 0.50
FOSFORO INORGANICO mg/dl	4.49 ± 0.64	4.28 ± 0.77	4.37 ± 0.70	4.67 ± 0.41	4.74 ± 0.73	4.46 ± 0.70
PROTEINAS TOTALES g/dl	7.50 ± 0.38	7.53 ± 0.41	7.74 ± 0.44	7.66 ± 0.37	7.54 ± 0.42	7.42 ± 0.33
ALBUMINA g/dl	4.81 ± 0.53	4.60 ± 0.44	4.60 ± 0.37	4.67 ± 1.12	4.57 ± 0.38	4.49 ± 0.43

*Diferencia significativa con respecto al valor basal y al del grupo placebo en el mismo periodo de tiempo (P=0.05)

TABLA 23

MUJERES: PRESIONES ARTERIALES DEL GRUPO PLACEBO

Semanas de Suplementación		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	
n		14	14	14	14	14	14	14	10	10	9	9	9	
Posiciones:														
	Dorsal	Sistólica	100	101	101	100	101	100	101	103	99	98	102	98
		Diastólica	68	65	67	66	67	66	68	70	68	67	70	68
	Lateral	Sistólica	101	102	102	100	103	100	101	102	101	99	101	97
		Diastólica	67	66	65	67	65	65	65	67	66	65	66	68
	Sentado	Sistólica	99	99	99	99	102	99	101	103	100	98	101	102
		Diastólica	72	72	72	72	73	72	72	73	71	68	75	73

Valor promedio en mmHg

TABLA 24

MUJERES: PRESIONES ARTERIALES DEL GRUPO SUPLEMENTADO CON CALCIO

Semanas de Suplementación		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
n		15	15	15	15	15	15	15	14	14	14	11	11
Posiciones:													
Dorsal	Sistólica	104	106	105	103	104	104	102	104	100	100	97	100
	Diastólica	69	65	67	69	67	67	66	66	63	65	66	64
Lateral	Sistólica	105	106	105	106	104	104	103	103	103	99	101	100
	Diastólica	68	66	68	69	68	66	66	66	63	64	66	64
Sentado	Sistólica	103	105	105	105	102	104	103	103	103	101	99	101
	Diastólica	75	73	74	75	75	73	72	72	70	72	71	72

Valor promedio en mmHg

TABLA 25

COEFICIENTES DE REGRESION DEL EFECTO DE LA SUPLEMENTACION SOBRE LOS CAMBIOS PORCENTUALES
DE PRESION ARTERIAL

		MUJERES		HOMBRES	
		GRUPO PLACEBO (n = 117)	GRUPO CALCIO (n = 127)	GRUPO PLACEBO (n = 96)	GRUPO CALCIO (n = 144)
LATERAL	SISTOLICA	-0.101	-0.240*	-0.071	-0.110
	DIASTOLICA	-0.088	-0.405*	-0.074	-0.380*
DORSAL	SISTOLICA	-0.027	-0.259*	-0.022	0.022
	DIASTOLICA	0.014	-0.333*	-0.066	-0.302
SENTADO	SISTOLICA	0.179	-0.236*	0.167	0.114
	DIASTOLICA	-0.010	-0.271*	-0.013	-0,109

* Diferencias significativas con respecto al grupo placebo (P = 0.01)

MUJERES: CAMBIOS PORCENTUALES DE PRESION ARTERIAL ENTRE LOS VALORES BASALES Y LOS DEL PERIODO DE ESTABILIZACION (Semana 9 a la 22)

POSICION		GRUPO PLACEBO (n = 54)	GRUPO CALCIO (n = 77)	P
LATERAL	SISTOLICA	0.23*+ 4.96	-1.55 + 5.21	0.04
	DIASTOLICA	0.42 +10.7	-4.19 + 9.73	0.01
DORSAL	SISTOLICA	1.12 + 4.72	-1.21 + 5.14	0.009
	DIASTOLICA	0.91 + 6.98	-5.64 + 8.41	0.0001
SENTADO	SISTOLICA	3.51 + 7.43	0.24 + 6.43	0.008
	DIASTOLICA	1.38 + 8.83	-2.85 + 7.71	0.004

* X + DS

HOMBRES: PRESIONES ARTERIALES DEL GRUPO PLACEBO

Semanas de Suplementación		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
n		13	13	13	13	13	11	11	11	11	10	10
Posiciones:												
Dorsal	Sistólica	109	112	109	110	108	111	109	110	106	111	111
	Diastólica	68	68	64	69	71	69	71	69	65	73	72
Lateral	Sistólica	109	110	109	110	107	108	108	110	106	112	109
	Diastólica	69	68	67	72	72	68	69	70	66	73	79
Sentado	Sistólica	108	111	111	110	110	111	110	108	108	114	115
	Diastólica	76	76	75	80	79	77	76	78	74	78	85

Valor promedio en mmHg

TABLA 28

HOMBRES: PRESIONES ARTERIALES DEL GRUPO SUPLEMENTADO CON CALCIO

Semanas se Suplementación		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
n		15	15	15	15	15	15	14	14	14	14	13
Posiciones:												
Dorsal	Sistólica	118	117	119	115	119	117	118	116	115	119	121
	Diastólica	74	71	70	67	68	68	69	66	69	67	64
Lateral	Sistólica	120	118	121	117	119	115	119	116	115	116	121
	Diastólica	75	74	71	69	70	69	71	66	68	67	67
Sentado	Sistólica	115	115	118	115	117	117	118	117	116	118	123
	Diastólica	80	80	80	78	79	79	78	77	78	76	76

Valor promedio en mmHg

TABLA 29

HOMBRES: CAMBIOS PORCENTUALES DE PRESION ARTERIAL ENTRE LOS VALORES BASALES Y LOS DEL PERIODO
DE ESTABILIZACION (Semanas 7 a la 20)

POSICION	GRUPO PLACEBO (n = 57)	GRUPO CALCIO (n = 97)	P
LATERAL			
SISTOLICA	-0.10* (5.4)	-1.90 (5.9)	0.08
DIASTOLICA	0.10 (14.0)	-9.00 (10.3)	0.0001
DORSAL			
SISTOLICA	0.59 (4.5)	-0.14 (4.7)	0.35
DIASTOLICA	-1.01 (8.4)	-9.05 (8.3)	0.0001
SENTADO			
SISTOLICA	2.34 (4.6)	2.37 (6.1)	0.98
DIASTOLICA	1.95 (7.3)	-1.79 (6.7)	0.002

* X + DS

FIGURA 1

PRESION ARTERIAL EN RATAS DE 90 DIAS

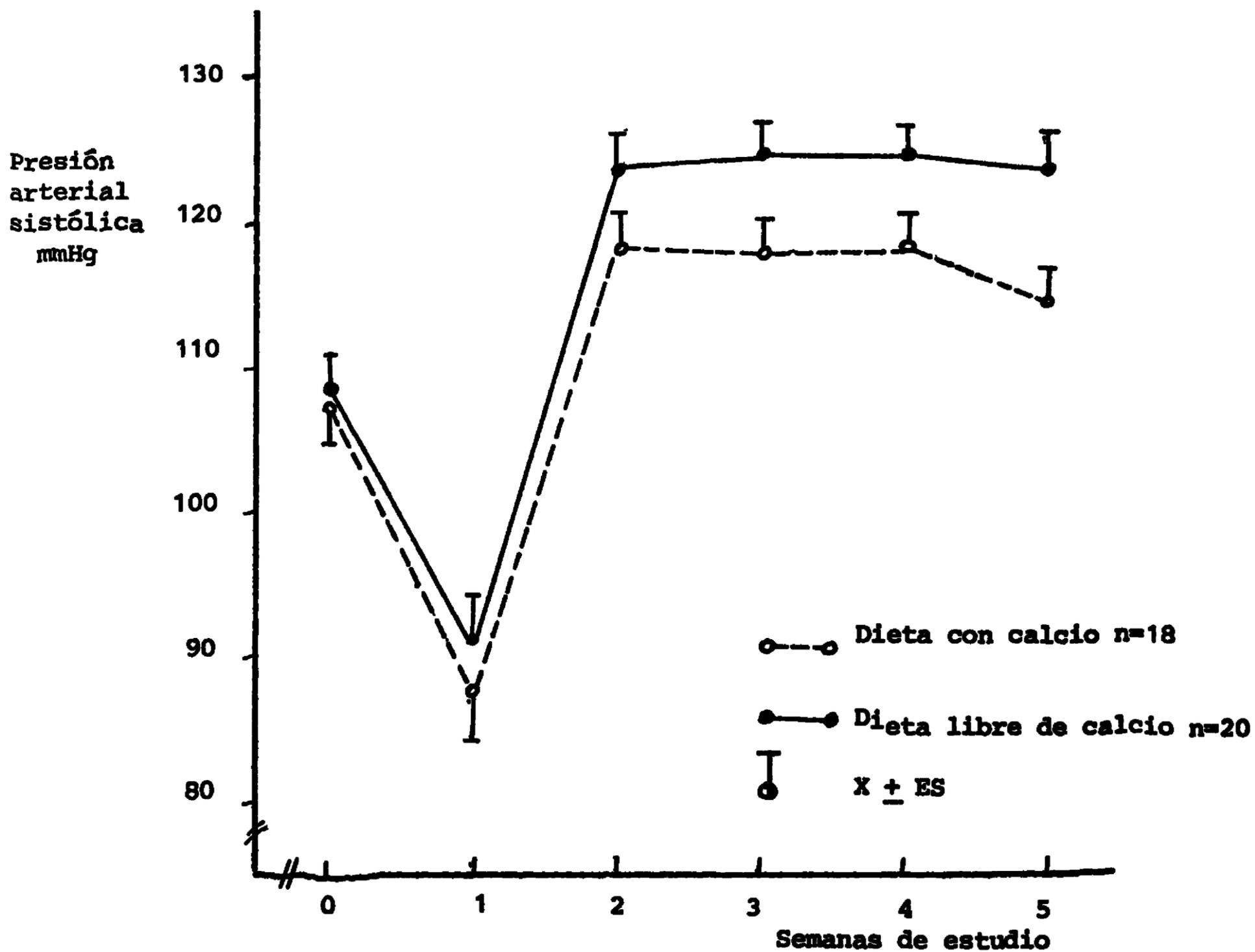


FIGURA 2

PRESION ARTERIAL SISTOLICA EN RATAS DE 140 DIAS PREVIO AL APAREAMIENTO

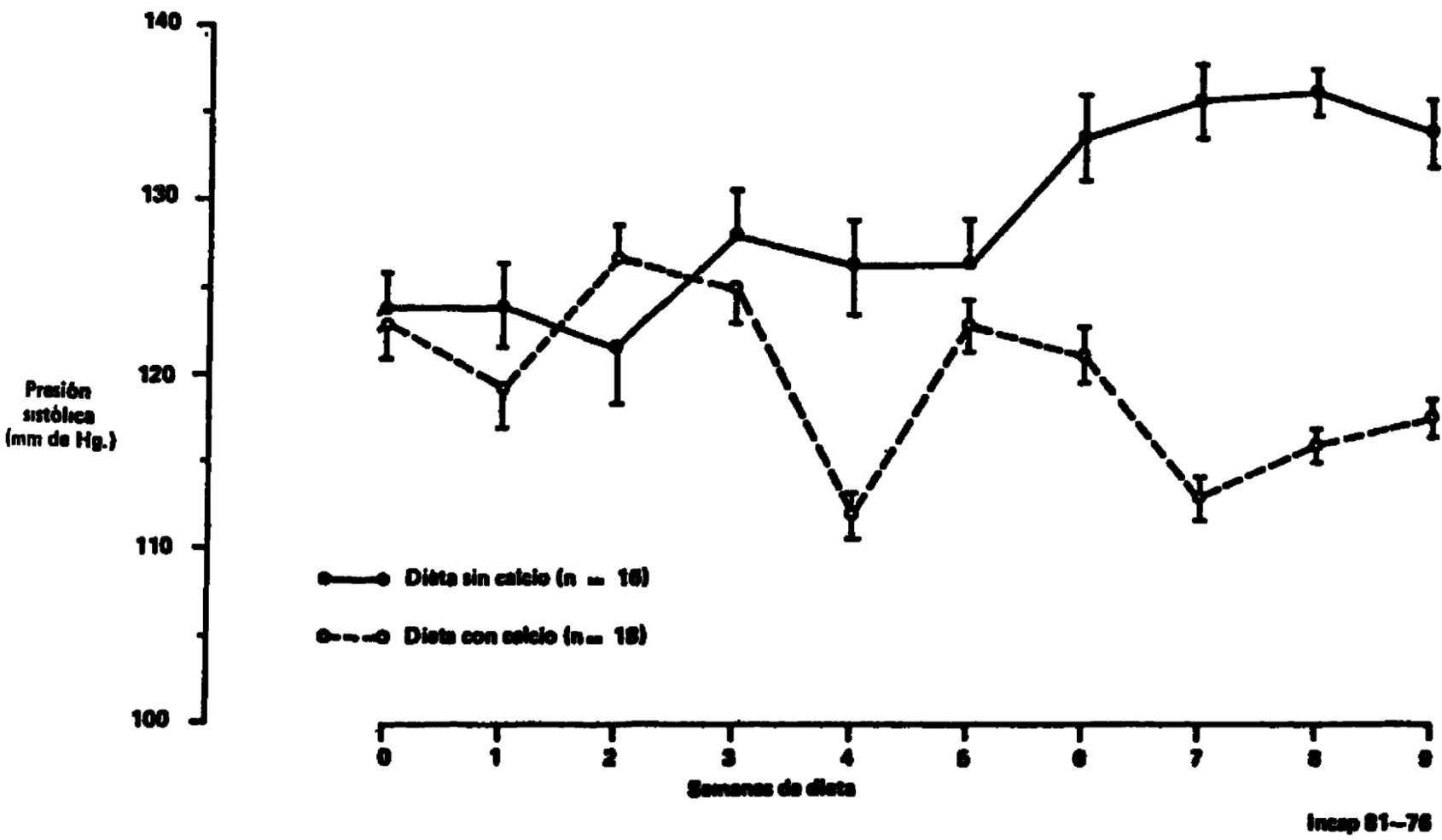


FIGURA 3

PRESION ARTERIAL SISTOLICA EN RATAS DE 140 DIAS POSTAPAREAMIENTO

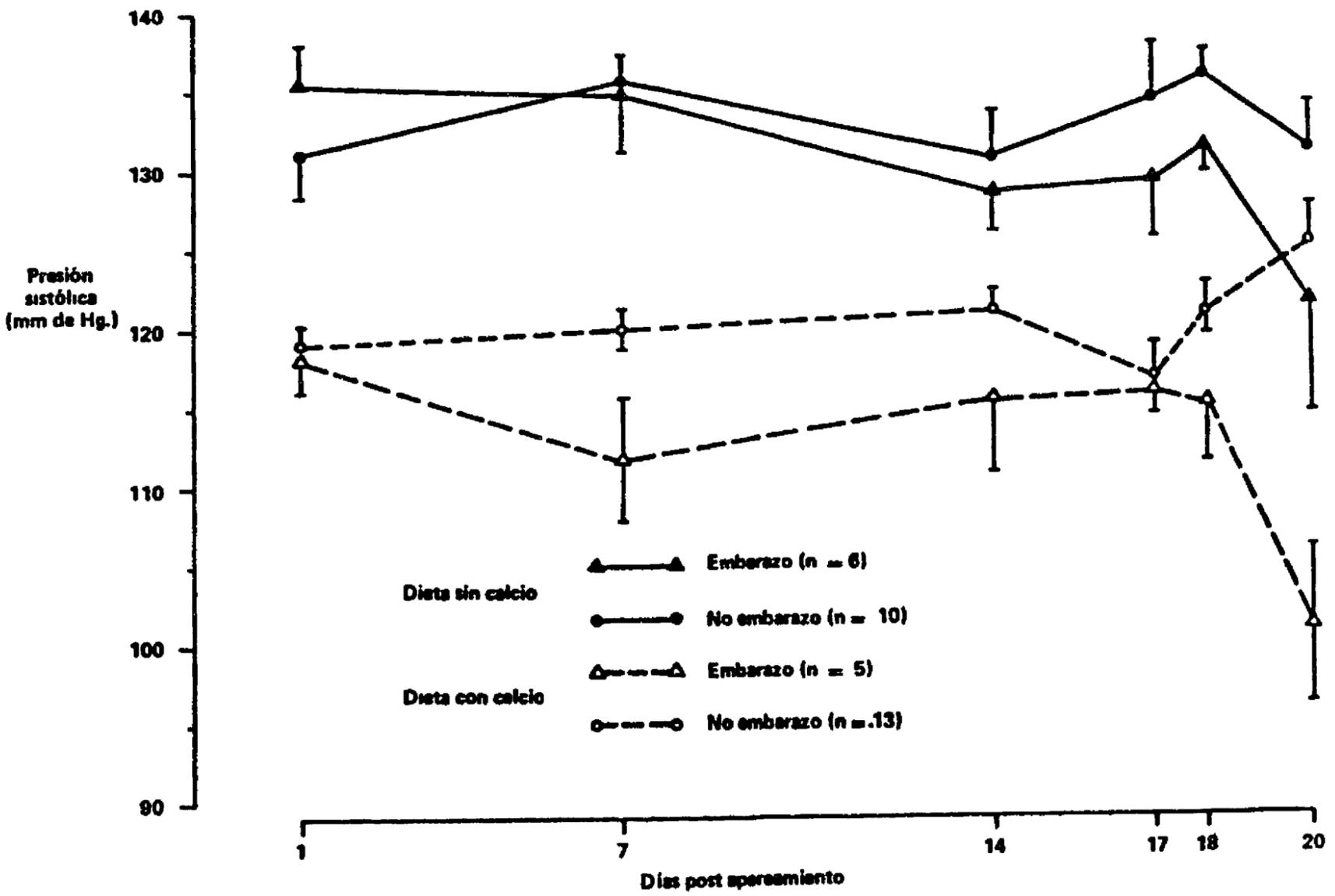
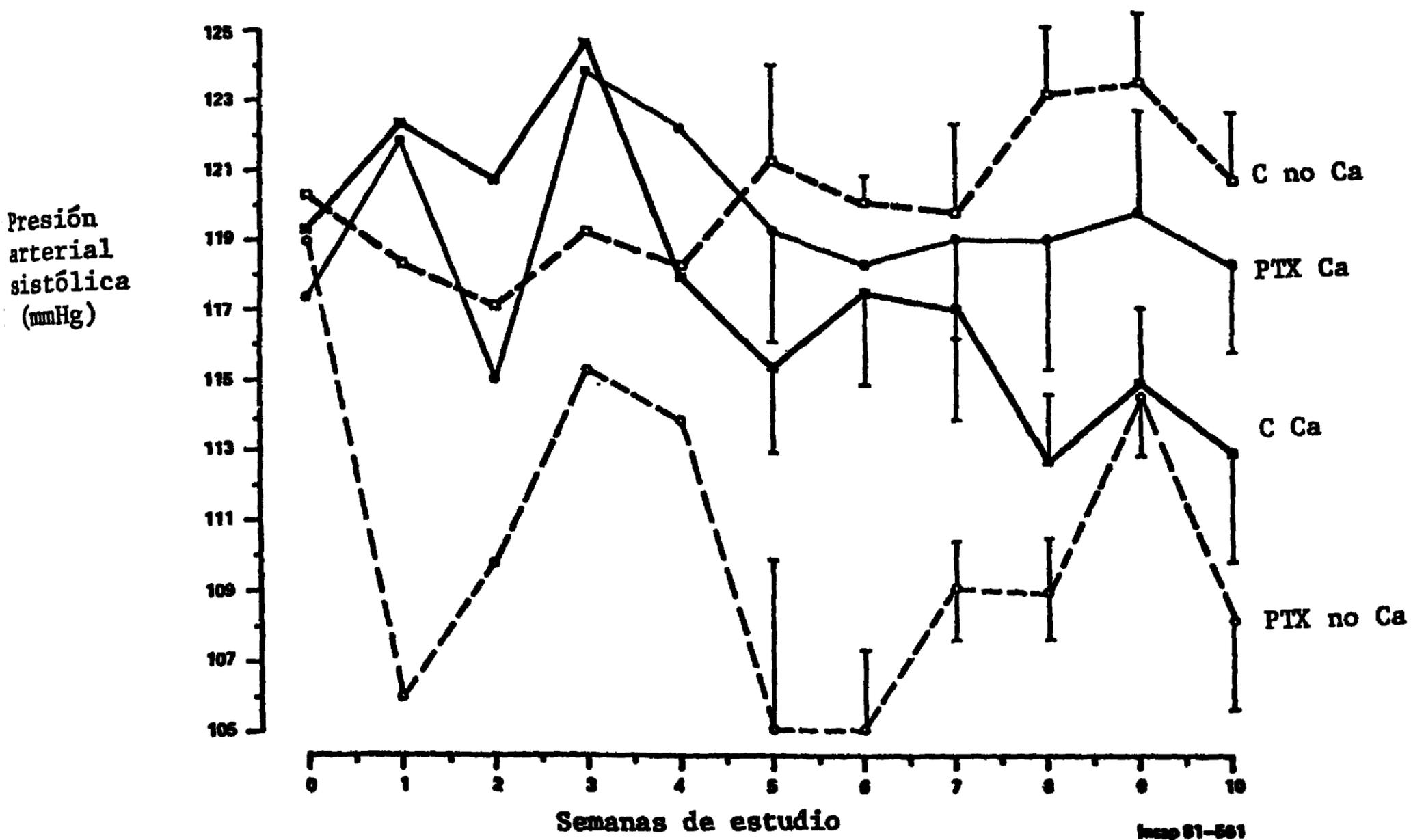


FIGURA 4

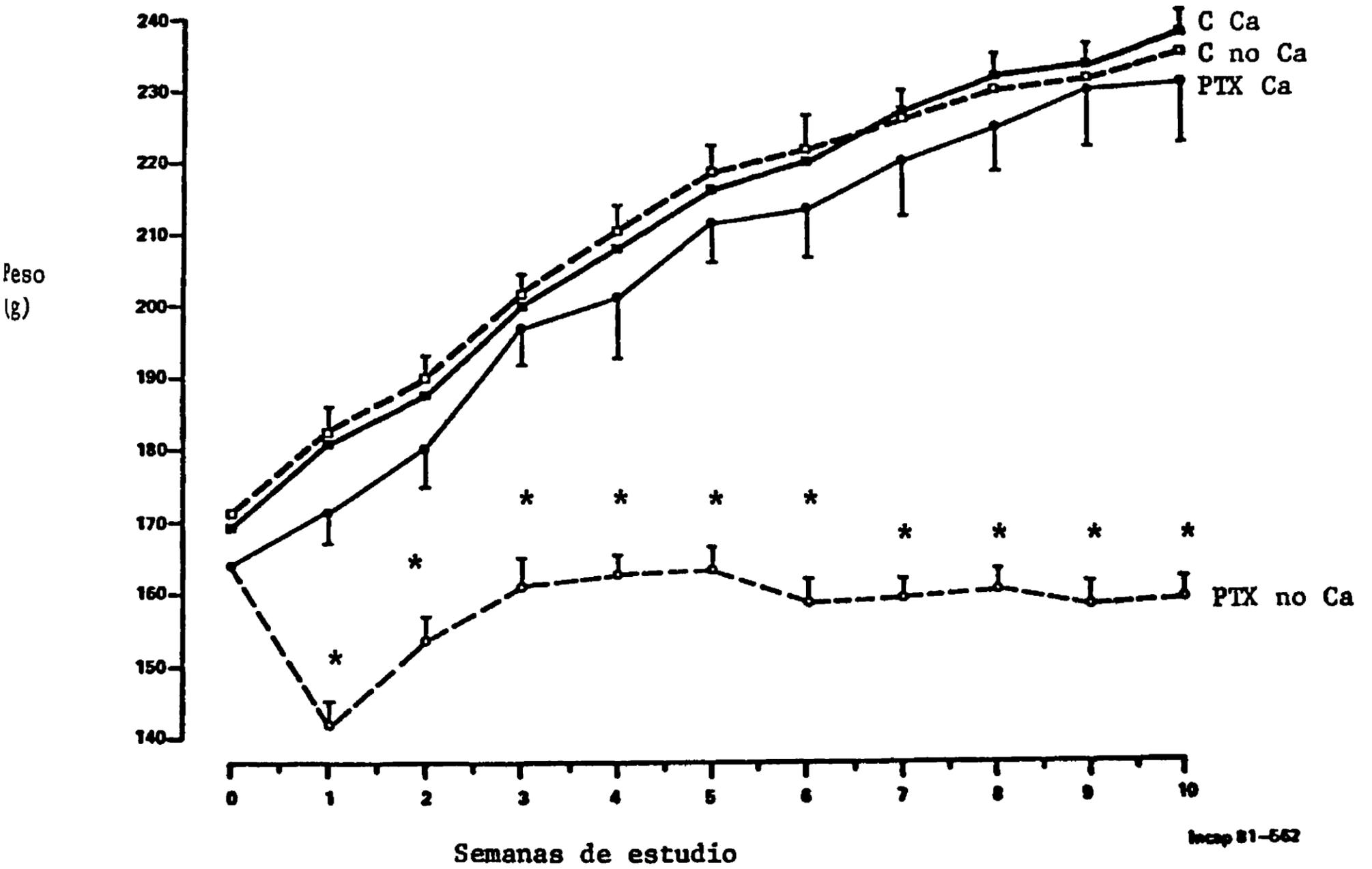
EFFECTO DE PARATIROIDECTOMIA Y DIETA SOBRE LA PRESION ARTERIAL EN RATAS



C = controles con paratiroides
PTX = paratiroidectomizadas

FIGURA 5

EFFECTO DE PARATIROIDECTOMIA Y DIETA SOBRE EL PESO CORPORAL EN RATAS



C = control con paratiroides
PTX= paratiroidectomizadas

* Diferencias significativas con respecto a los otros tres grupos (P < 0.05)

FIGURA 6

CANTIDAD DE INDIVIDUOS EN CADA GRUPO DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO

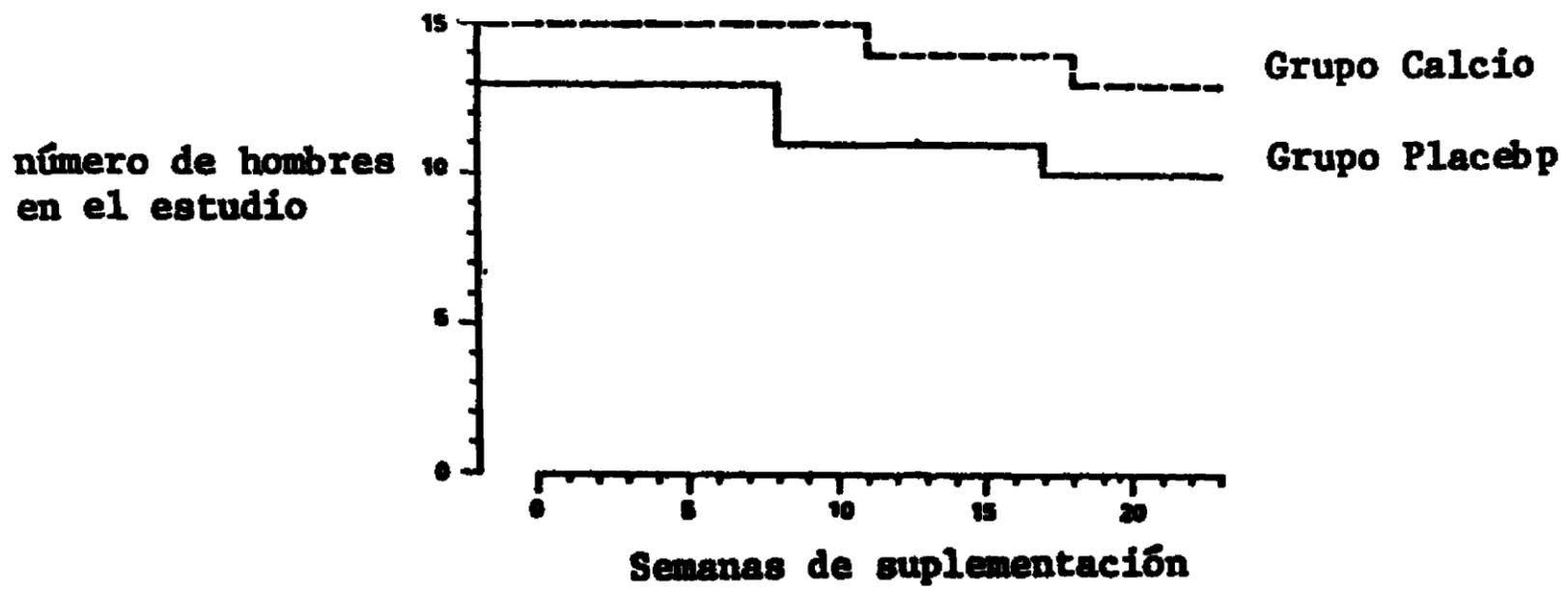
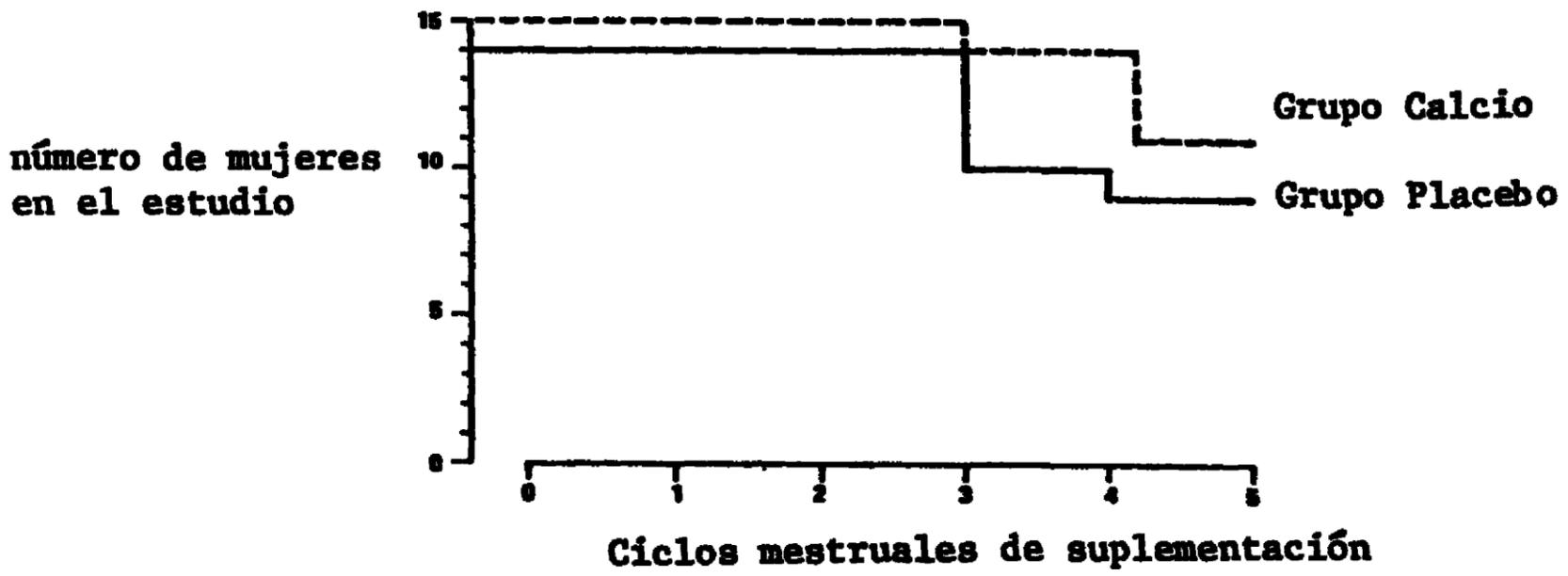


FIGURA 8

MUJERES: PRESION ARTERIAL SISTOLICA.POSICION DORSAL

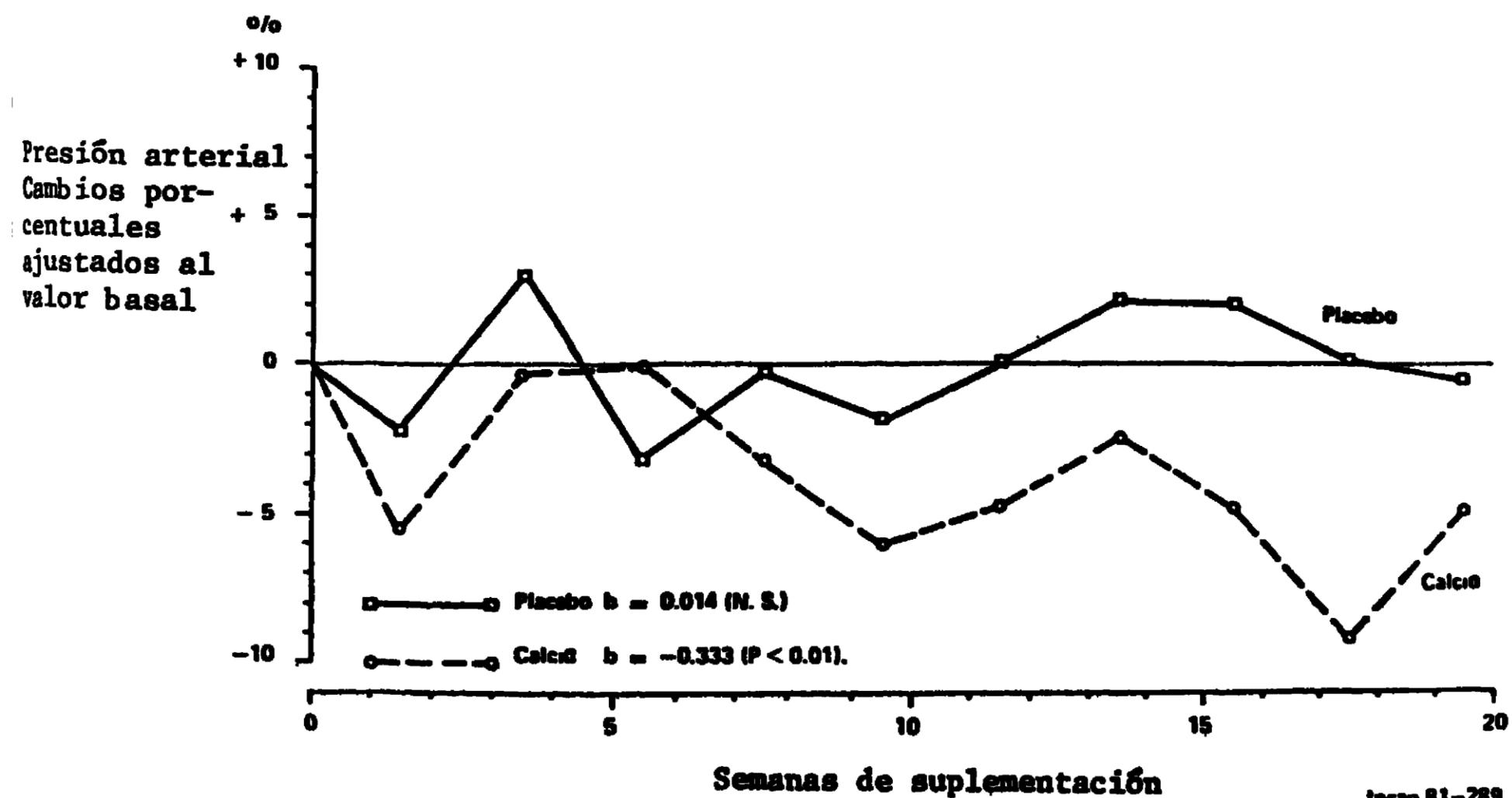


FIGURA 9

HOMBRES: PRESION ARTERIAL SISTOLICA.POSICION DORSAL

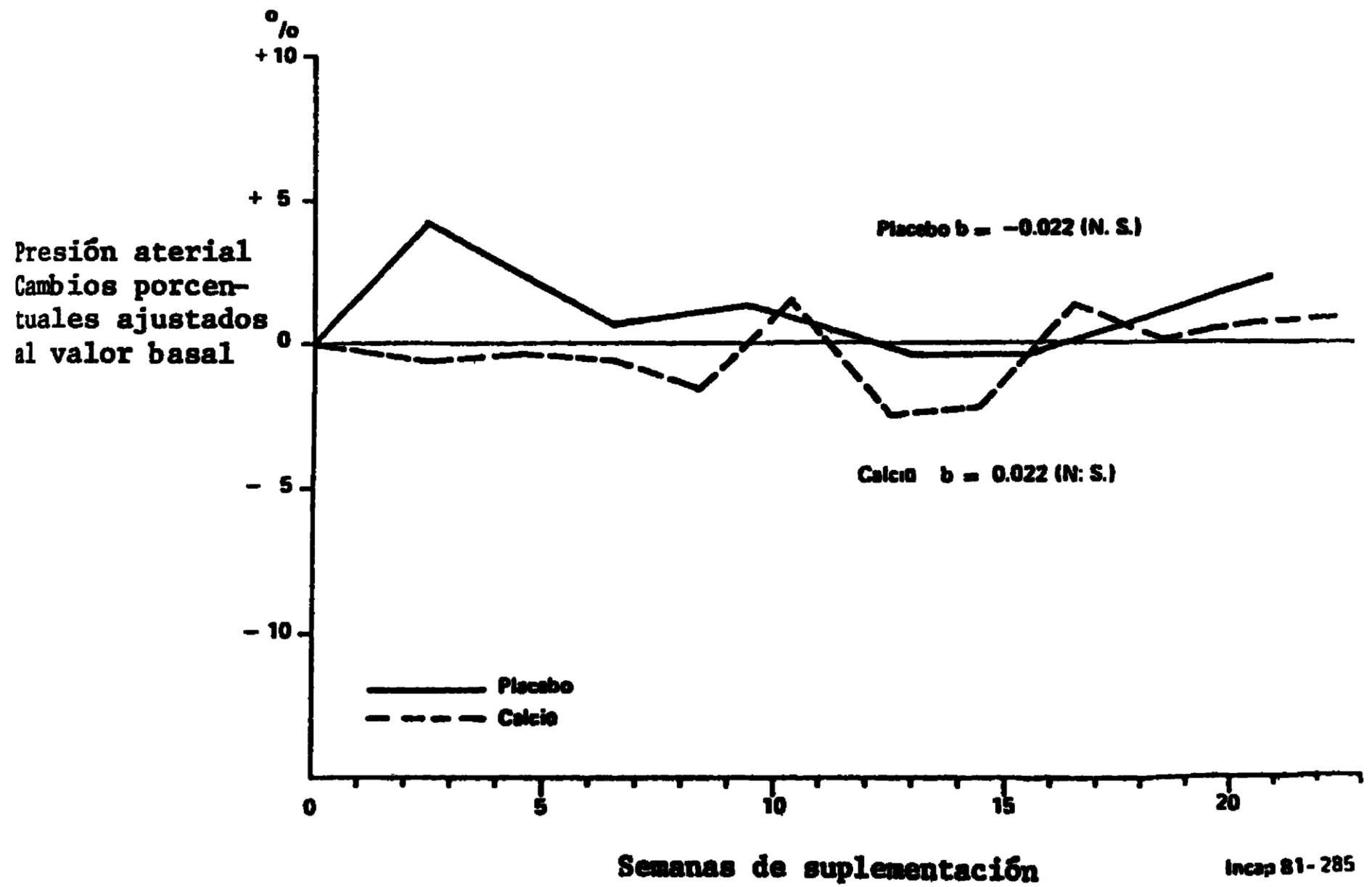
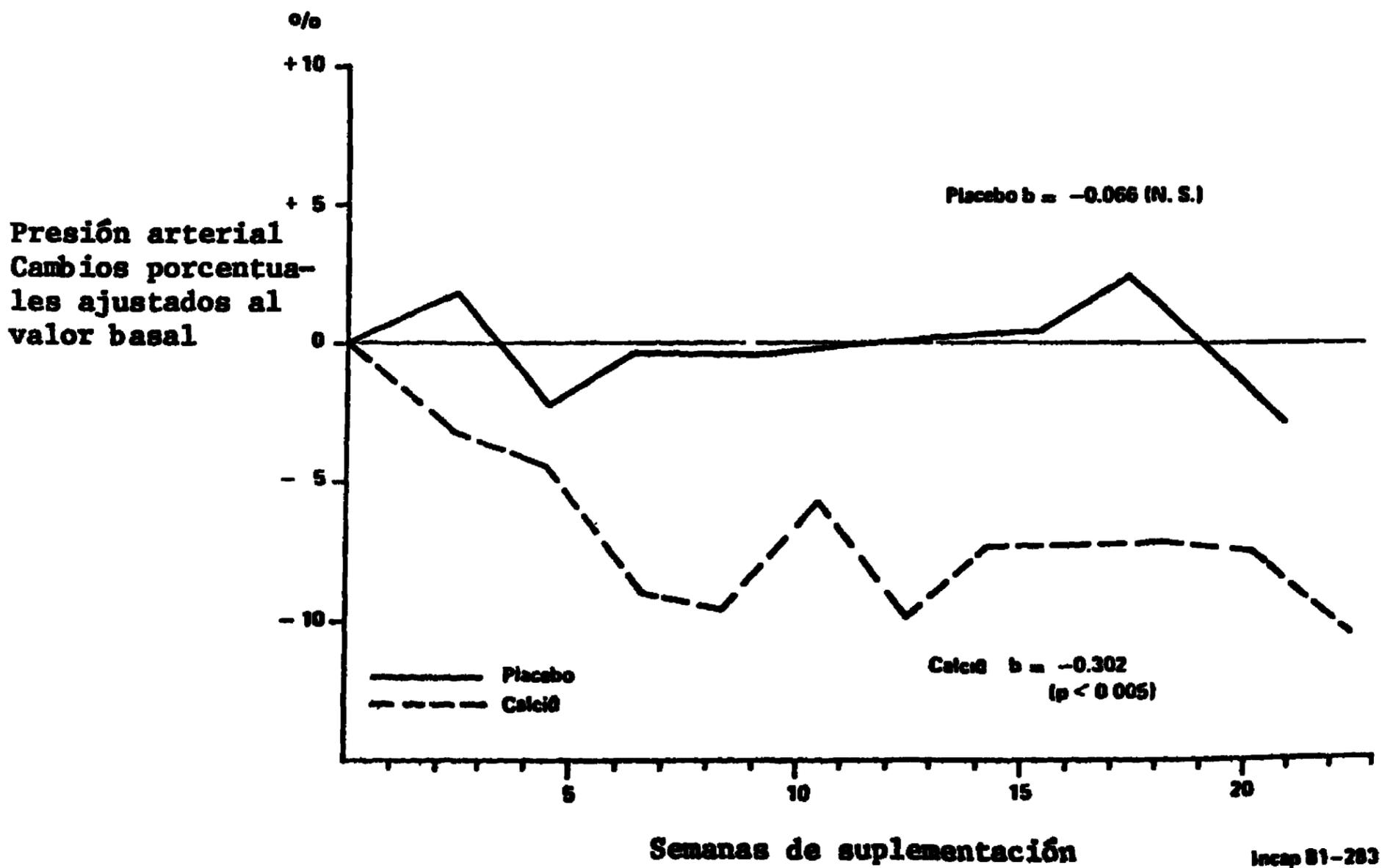
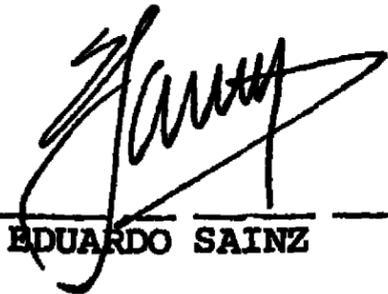


FIGURA 10

HOMBRES: PRESION ARTERIAL SISTOLICA.POSICION DORSAL





EDUARDO SAINZ

COMITE DE TESIS:



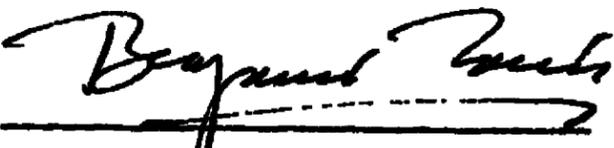
Dr OSCAR PINEDA



Dr JOSE BELIZAN
Asesor de tesis



Dr GUILLERMO ARROYAVE



Dr BENJAMIN TORUN



Lic RAFAEL FLORES



Dr JOSE HECTOR AGUILAR
Decano de la Facultad de
Ciencias Quimicas y Farmacia