

ALTERACIÓN DE LA CINÉTICA DEL FÓSFORO EN UN OVINO DE PELO EN CRECIMIENTO

ALTERATION IN PHOSPHORUS KINETICS IN A GROWING HAIR SHEEP

PATIÑO P. RENÉ M Dr^{1*}, DA SILVA FILHO, JOSÉ Dr²; MOREIRA, JOSÉ A Dr.³

¹Universidade de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Zootecnia, Sincelejo, Colombia. ²Universidade Federal de Lavras, Programa de Zootecnia, MG, Brasil, ³Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

*Correspondencia: rene.patino@unisucre.edu.co

Recibido: 02-05-2013; Aceptado: 28-06-2013.

Resumen

El objetivo de este estudio fue analizar los datos de un estudio en ovinos de pelo en crecimiento en donde se evaluó el efecto del incremento en la ingestión de fósforo sobre la cinética metabólica del mineral, y en el cual se observó un animal con alteraciones en los flujos de fósforo, en especial la cantidad excretada en la orina. El caso se destaca ya que no es usual que en un rumiante se excrete grandes cantidades de fósforo por la orina. Aunque este animal perdió más fósforo por vía fecal, la excreción por orina fue catorce veces superior a la observada en el resto de individuos. Además, la eficiencia con que se absorbió el fósforo dietético por parte de este ovino fue 36% inferior. Lo anterior destaca a este animal por poseer una cinética metabólica del mineral claramente diferente al resto de individuos. Considerando las variables estudiadas no se pudo especificar con precisión cuál fueron las causas de esas alteraciones, debido a la complejidad de la homeostasis del mineral en ese tipo de animales.

Palabras clave: metabolismo, minerales, rumiantes

Abstract

The objective of this study was to analyze the data from a study in growing hair sheep which evaluated the effect of increasing in intake of phosphorus on mineral metabolic kinetics, and in which an animal was observed with altered phosphorus flows, especially the amount excreted in the urine. The situation is remarkable because it is unusual for a ruminant to excrete large amounts of phosphorus through urine. Although this animal lost more phosphorus in the faeces, urine excretion was about fourteen times higher than that observed in other lambs. Furthermore, the efficiency with which dietary phosphorus was absorbed by the sheep was 36% lower, which explains the difference in mineral metabolic kinetics, clearly different from other individuals. Considering the variables studied could not specify, precisely, what were the causes of these changes, due to the complexity of mineral homeostasis in such animals.

Key words: metabolism, minerals, ruminants

Introducción

El fósforo es un elemento considerado esencial para la vida. La mayor parte del mineral (80%) se encuentra conformando los huesos, y el resto participa activamente en el metabolismo energético del animal y en la composición celular. Los rumiantes se caracterizan por utilizar el fósforo presente en los vegetales de manera más eficiente que los no rumiantes, debido a la presencia de la enzima fitasa en el ambiente ruminal. Otro aspecto que diferencia ambos grupos de animales es la forma como metabolizan el fósforo, principalmente en lo referente a las vías de excreción. Los no rumiantes excretan los excedentes de fósforo principalmente por la orina, mientras que los rumiantes lo hacen por la vía fecal (BRAVO *et al.*, 2003).

En los rumiantes la cantidad excretada del mineral varía según el tipo de dieta. La cantidad y la fuente de fósforo usada en la dieta afectan también la cinética del mineral en el organismo (VITTI *et al.*, 2000; DIAS *et al.*, 2006). La edad del animal puede influir en la utilización del fósforo dietético, ya que se ha observado que los animales jóvenes poseen una mayor eficiencia de absorción (BRAITHWAITE, 1975). De esta manera, son varios los aspectos que pueden influir en la homeostasis del fósforo en el organismo y, por tanto, la cinética del mineral.

En los últimos años, el estudio de este mineral en el contexto de la producción animal, se ha centrado básicamente en la redefinición de las exigencias del mineral, buscando precisar en las mismas reducir al máximo la excreción sin afectar el desempeño animal (PATIÑO *et al.*, 2011). Esta tendencia surgió debido a que el fósforo liberado al ambiente puede contribuir a la contaminación de las fuentes de agua, lo que lo convierte en un elemento con capacidad contaminante. Otro tema reciente de investigación es el uso de la enzima fitasa, principalmente en animales no rumiantes, con la misma finalidad, es decir, la reducción de la cantidad excretada del mineral, debido al incremento en la eficiencia de absorción.

Una de las técnicas que ha permitido una mejor comprensión del metabolismo del fósforo es la dilución isotópica, complementada con el desarrollo y/o aplicación de modelos matemáticos de varios tipos, que pueden representar la cinética del mineral (DIAS *et al.*, 2011). FERNÁNDEZ (1995), utilizando datos combinados de estudio de balance y absorción de fósforo con estudios de cinética en cerdos, formularon un modelo de tres compartimientos (tracto gastrointestinal, plasma y hueso) para estudiar el metabolismo de calcio y fósforo. LOPES *et al.* (2001) adoptaron el modelo anterior y acrecentaron un nuevo compartimiento para representar los tejidos. Por otra parte, VITTI *et al.*

(2000) propusieron un modelo de compartimientos (tracto gastrointestinal, plasma, huesos y tejidos blandos) para estudiar la cinética del fósforo usando fósforo marcado (^{32}P) y aplicando el principio de conservación de las masas para generar ecuaciones diferenciales que describen la dinámica del sistema. Más recientemente, DIAS *et al.* (2011) modificaron el modelo propuesto por VITTI *et al.* (2000) y adicionaron un compartimiento para representar la saliva. La ventaja de trabajar con radioisótopos como ^{32}P es que se puede cuantificar la fracción endógena fecal, y definir los flujos entre compartimientos, si adicionalmente se aplican los modelos existentes. Estos flujos incluyen además la cuantificación de las cantidades de fósforo, en este caso, que dejan el sistema vía heces u orina.

Debido a que la principal vía de excreción de fósforo en rumiantes son las heces, algunos autores consideran que las pérdidas de fósforo urinario deben ser tenidas en cuenta principalmente en no rumiantes (UNDERWOOD Y SUTTLE, 2003). Bajo este criterio resulta llamativo que un animal rumiante presente excreción abundante de fósforo en la orina. Por ese motivo, este estudio tiene por objetivo analizar y caracterizar la cinética de fósforo de un ovino en crecimiento que presentó un comportamiento totalmente diferente al resto de animales en relación a la excreción de fósforo y a los flujos del mineral a través de la aplicación de un modelo matemático previamente establecido, utilizando la técnica de la dilución isotópica.

Metodología

El caso observado hace parte de un estudio de la cinética metabólica de fósforo, en donde se evaluó el efecto del incremento en la ingestión de fósforo sobre la cinética metabólica del mineral en ovinos de pelo de la raza Santa Inés en fase de crecimiento. En total se utilizaron 24 animales con peso vivo de 33.6 kg ($\pm 1,6$). La primera parte de la fase experimental fue conducida en corrales grupales, en donde se dividieron los animales por tratamientos (nivel de fósforo en la dieta). Posteriormente, el estudio de la cinética se realizó en jaulas de estudio de metabolismo, equipadas con comederos, bebederos, y mecanismos de separación de heces y orina.

Los tratamientos consistieron en cantidades crecientes de fósforo en la dieta, para lograr consumos diarios de 0, 2, 4 y 6 g/animal. La dieta la constituyeron heno de pasto "Coast-Cross" (*Cynodum dactylon* L. pers), a voluntad y 300 gramos diarios de alimento balanceado, compuesto por harina de yuca, harina de soya, melaza, urea, fosfato bicalcico y mezcla mineral, de modo que se presentaran como isoproteicas (11.6% PB) e isocalóricas (50% NDT). La relación Ca:P se mantuvo próxima a 2:1. El caso que se presenta en este estudio corresponde a uno de los animales del tratamiento que recibió diariamente 4 g de fósforo, y que a su vez consumió una dieta con 0.58% de

fósforo, lo que se tradujo en una oferta elevada del mineral, superior a la exigencia dietética. Por este motivo, las comparaciones se realizaron, básicamente, con los seis animales que conformaron ese grupo experimental, sin desconsiderar el total de animales para algunos de los aspectos a discutir. La composición nutricional de los alimentos constituyentes de las dietas se realizó siguiendo los métodos de la AOAC (1995) y de VAN SOEST y WINE (1967).

Al octavo día de los animales en las jaulas de estudio de metabolismo se aplicó en la vena yugular derecha una dosis de 7.4 MBq de ^{32}P , en 1 ml de solución salina 0.85%. La radioactividad media en las muestras de plasma, heces, orina y tejidos se midió en espectrofotómetro de cintilación líquida (NASCIMENTO FILHO y LOBÃO, 1977). Las recolectas de sangre se realizaron cinco minutos luego de la inyección y posteriormente, cada 24 horas por siete días (168 horas). La determinación del fósforo inorgánico en plasma, orina y líquido ruminal se realizó usando las técnicas de colorimetría descritas por FISKE y SUBBAROW (1925), mientras que para las muestras de alimento, tejido y heces se usó el método, también colorimétrico, indicado por SARRUGE y HAAG (1974).

El porcentaje de fósforo endógeno en las heces y la disponibilidad biológica del mineral se calculó según el método utilizado por PORTILHO *et al.* (2006).

Luego de transcurridas 168 horas, desde la aplicación del isótopo, los animales fueron sacrificados de acuerdo a los procedimientos del Comité de Ética en experimentación con animales del Centro de Energía Nuclear en la Agricultura (CENA) de la Universidad de São Paulo (Brasil). Luego del sacrificio, los tejidos en estudio (hueso, músculo, hígado, riñón y testículo) fueron retirados y preparados para la cuantificación del contenido de fósforo inorgánico.

Para el estudio de la cinética metabólica del mineral se aplicó el modelo propuesto por VITTI *et al.* (2000), el cual se aprecia en la FIG. 1.

Los símbolos utilizados en el modelo de tipo compartimental fueron: F_{ij} = flujo total de P (fósforo) para i a partir de j , F_{i0} denota el flujo externo dentro de i y F_{0j} el flujo de salida del sistema a partir de j , los flujos F_{01} , F_{10} y F_{02} , fueron medidos experimentalmente: D = dosis de ^{32}P administrada en la sangre en el tiempo cero en cpm (conteos o decaimientos por minuto); Q_i = cantidad total de P en i ; q_i = cantidad de ^{32}P en i en cpm; s_i = actividad específica del "pool" i (q_i/Q_i) en cpm/g; T = tiempo (día). El modelo posee cuatro compartimientos: tracto digestivo (1), plasma (2), huesos (3) y tejidos moles (4). Está representado por flechas el flujo de P entre los compartimientos, así como las entradas y salidas del sistema. El tracto gastrointestinal, huesos y tejidos moles presentan trocas (intercambios?) bidireccionales con el plasma. El P entra al sistema vía consumo (F_{10}) y sale a través de las heces (F_{01}) y orina (F_{02}). El

esquema asume que no hay reentrada de marcador de otras fuentes externas. Después de siete días de la introducción de ^{32}P se asume que el compartimiento 1 está en equilibrio (isotópico y no isotópico) y el compartimiento 2 en estado no isotópico.

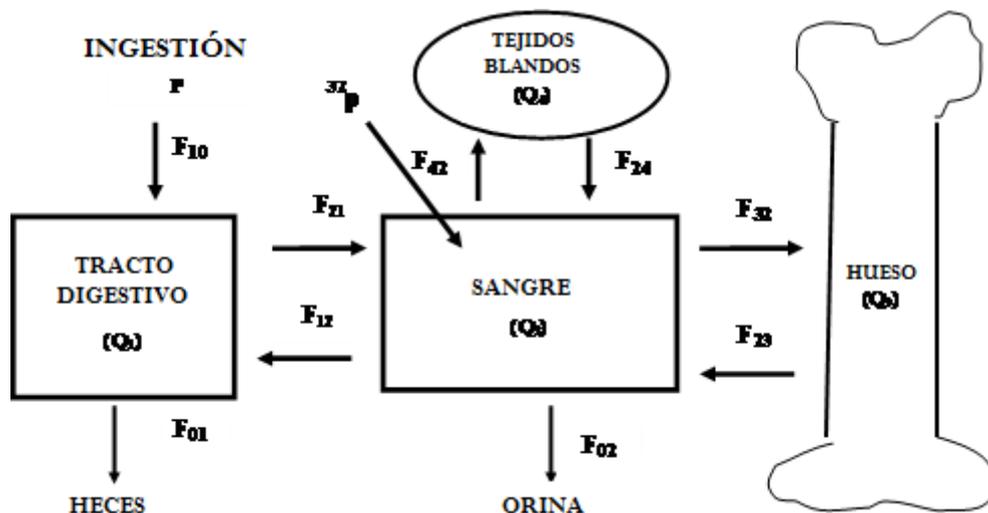


Figura 1. Modelo propuesto por VITTI *et al.* (2000) para la distribución del fósforo en el organismo de ovinos en crecimiento

La solución algebraica del modelo fue representada por las siguientes ecuaciones:

$$F_{12} = s_1 \tilde{F}_{10} / (s_2 - s_1) \quad (1)$$

$$F_{21} = \tilde{F}_{10} + F_{12} - \tilde{F}_{02} \quad (2)$$

$$F_{32} = s_3 R_2 Q_3 / [s_2 (s_2 - s_3)] \quad (3)$$

$$F_{42} = s_4 R_2 Q_4 / [s_2 (s_2 - s_4)] \quad (4)$$

$$|F_{23} + F_{24}| = \tilde{F}_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42} - F_{21} \quad (5)$$

$$F_{24} = (s^* - s_3) \times |F_{23} + F_{24}| / (s_4 - s^*) \quad (6)$$

$$F_{23} = |F_{23} + F_{24}| - F_{24} \quad (7)$$

Donde la notación \tilde{F} indica un flujo determinado experimentalmente, y la actividad específica de la combinación de los compartimientos 3 e 4 fue

$$s^* = (s_3 Q_3 + s_4 Q_4) / (Q_3 + Q_4) \quad (8)$$

La tasa de troca de la actividad específica del compartimiento 2 fue

$$R_2 = ds_2/dt \quad (9)$$

Los valores de s_2 e R_2 a los siete días fueron obtenidos después del ajuste de la ecuación de la curva de decaimiento de la actividad específica del plasma:

$$s_2(t) = ae^{-bt} \quad (10)$$

Donde t (día) es el tiempo desde la aplicación de la dosis, y a (dpm/g) e t (día) son parámetros. La tasa de intercambio resultante cuando se diferencia la ecuación en relación al tiempo es igual a:

$$ds_2(t)/dt = -abe^{-bt} \quad (11)$$

La cual permite el cálculo de R_2 para el séptimo día.

Los datos fueron analizados utilizando aplicativos estadísticos del programa Excel, luego de organizar los datos en una planilla, y aplicar las ecuaciones para la cuantificación de los flujos entre compartimientos. La media fue la medida de tendencia utilizada.

Hallazgos

En la Tabla 1 se observan los valores obtenidos para el animal objeto de estudio y la media observada para el resto de animales en cada una de las variables estudiadas.

La ingestión diaria de fósforo del animal en estudio fue semejante a la del resto de animales, sin embargo, al observar la cantidad excretada, tanto por vía fecal como en orina, se observó un comportamiento diferente, con un incremento notorio en la cantidad de mineral perdido en la orina, prácticamente 14 veces superior (0.72 vs 10.05 mg/kgPV, respectivamente) en relación al resto de animales. Este punto es el que diferencia, principalmente, la cinética metabólica del mineral en ese animal, en comparación al resto de animales, afectando la retención o balance del mineral, que fue negativa (-0.210 mg/kg PV). El nivel elevado en la concentración de fósforo plasmático, también es otro aspecto diferente al resto del grupo. La concentración plasmática, de 11.67 mg%, superó el rango considerado como normal para ese tipo de animales, que se encuentra entre 6 y 9 mg% (Tabla 1), esto pudo ser una de las causas de los niveles elevados de fósforo en la orina. Se afirma también que dietas ricas en carbohidratos solubles o fácilmente fermentables incrementan la excreción de fósforo por la orina (UNDERWOOD y SUTTLE, 2003), sin embargo, en este caso, todos los animales consumieron dietas con la misma relación forraje:concentrado, que en este estudio fue próxima de 70:30.

Tabla 1. Valores observados de las variables relacionadas con la cinética de fósforo (P) del animal referencia y del grupo de animales (valor medio)

Variable	Animal en estudio	Media animales restantes
P ingerido, g/d	5.65	5.492
P en heces, g/d	5.35	4.208
P en orina, g/d	0.306	0.024
P endógeno fecal, g/d	2.14	2.46
P absorbido real, g/d	2.44	3.74
Coefficiente de absorción	0.43	0.68
P en plasma, mg%	11.67	8.20
P retenido, g/d	-0.00642	1.259
P en saliva, mg%	0.15	0.64
P en líquido ruminal, mg%	47.65	59.83
Variables en mg/kg PV		
P ingerido, mg/kg PV	185.25	162.03
P en heces, mg/kg PV	175.41	124.05
P en orina, mg/kg PV	10.05	0.72
P endógeno en heces, mg/kgPV	70.16	72.36
P absorbido real, mg/kg PV	80	110.16
P retenido, mg/kg PV	-0.210	37.261
Ingestión de materia seca, g/d	1154.5	951.3
Flujos¹ entre compartimientos, g/día		
Q2	0.187	0.124
Q3	169.03	145.21
Q4	26.23	20.69
F12	3.77	8.56
F21	4.07	10.05
F32	6.78	9.32
F42	2.38	2.06
F23+F24	9.17	9.92
F24	1.23	1.26
F23	7.94	8.66

¹Los símbolos utilizados en el modelo de tipo compartimental fueron: F_{ij} = flujo total de P (fósforo) para i a partir de j , F_{i0} denota el flujo externo dentro de i y F_{0j} el flujo de salida del sistema a partir de j , los flujos F_{01} , F_{10} y F_{02} , fueron medidos experimentalmente; D = dosis de ^{32}P administrada en la sangre en el tiempo cero en cpm (conteos o decaimientos por minuto); Q_i = cantidad total de P en i ; q_i = cantidad de ^{32}P en i en cpm; s_i = actividad específica del "pool" i (q_i/Q_i) en cpm/g; T = tiempo (día). El modelo posee cuatro compartimientos: tracto digestivo (1), plasma (2), huesos (3) y tejidos moles (4). Está representado por flechas el flujo de P entre los compartimientos, así como las entradas y salidas del sistema. El tracto gastrointestinal, huesos y tejidos moles presentan trocas bidireccionales con el plasma. El P entra al sistema vía consumo (F_{10}) y sale a través de las heces (F_{01}) y orina (F_{02}).

IQBAL *et al.* (2005) indican que en algunos casos se pueden presentar incrementos en la cantidad de fósforo excretado por la orina, sin embargo, son pocas las referencias existentes en donde se presenten casos específicos y con valores calculados de magnitud semejante a la observada en este animal, en relación a las pérdidas del mineral en la orina, específicamente en

rumiantes. Por ejemplo, DIAS *et al.* (2007), que ofrecieron niveles semejantes a los de esta investigación pero en animales de menor peso (23 kg), observaron valores en orina de 0.004 g/día, que es un valor muy inferior al observado en el presente estudio, que fue de 0.3 g/día.

Otro aspecto que llama la atención es que este animal presentó un coeficiente de absorción de 0.43, que es 36% inferior al calculado para el resto de animales, que fue de 0.68, valor muy próximo a lo indicado por el CSIRO (2007) como normal para ese tipo de animales y ese tipo de dietas. La baja eficiencia con que se absorbió el mineral en ese individuo se debe a la elevada pérdida a través de las excretas, que se refleja a su vez en el flujo F_{21} . Si se observan el resto de flujos entre el compartimiento central plasma, tejidos blandos y huesos, el fósforo perdido en la orina proviene básicamente de la fracción resultante del flujo entre tracto gastrointestinal y plasma, ya que la incorporación del mineral en huesos y en tejidos blandos fue también inferior en ese animal (Tabla 1).

Debido a que la homeostasis de fósforo es un proceso complejo, resulta difícil establecer con exactitud cuáles fueron las causas específicas para que este animal presentara alterada la cinética del mineral. Aspectos relacionados con el metabolismo de la vitamina D, la hormona PTH, la filtración renal de fosfatos y/o con los mecanismos de absorción a nivel intestinal podrían explicar el problema, sin embargo, prevalece el interrogante.

Referencias

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16ed. AOAC International, Arlington. 1025p.
- BRAITHWAITE, G.D. 1975. Studies on the absorption and retention of calcium and phosphorus by young and mature Ca-deficient sheep. *British Journal of Nutrition* 34(2):311-324.
- BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C. MESCHY, F. 2003. II. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants. *Reproduction Nutrition Development* 43(3):285-300, 2003.
- CSIRO. 2007. Nutrient Requirements of domesticates ruminants. CSIRO Publishing, Australia. 270p.
- DIAS, R.S.; KEBREAB, E.K.; VITTI, D.M.S.S.; ROQUE, A.P.; BUENO, I.C.; FRANCE, J. 2006. A revised model for studying phosphorus and calcium kinetics in growing sheep. *Journal of Animal Science* 84(10):2787-2794.
- DIAS, R.S.; KEBREAB, E.; VITTI, D.M.S.S.; PORTILHO, F.P.; LOUVANDINI, H.; FRANCE, J. 2007. Phosphorus kinetics in lambs fed different levels of dicalcium phosphate. *Journal of Agricultural Science* 145(2):509–516.

DIAS, R.S.; LÓPEZ, S.; PATIÑO, R.M.; SILVA, T.S.; SILVA FILHO, J.C.; VITTI, D. M. S. S.; PEÇANHA M. R. S. R.; KEBREAB, E.; FRANCE, J. 2011. An extended model of phosphorus metabolism in growing ruminants. *Journal of Animal Science* 89(12):4151-4162.

FERNANDEZ, J.A. 1995. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs: a model resolution. III. *Livestock Production Science* 41(3):255-261.

FISKE, C.H.; SUBBAROW, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *The Journal of Biological Chemistry* 66(2):375-400.

IQBAL, M.U.; BILAL, Q.; MUHAMMAD, G.; SAJID, M.S. 2005. Absorption, availability, metabolism and excretion of phosphorus in ruminants. *International Journal of Agriculture & Biology* 7(4):689-693.

LOPES, J.B.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, LARA HADDAD, M.; VALENTE DE FIGUEREDO, A.; BOTEQUIO DE MOREAS, R. 2001. Modelo de fluxo biológico do fósforo de fontes de fosfato em suínos, usando o ^{32}P como marcador. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 30(1):165-173.

LOUVANDINI, H.; VITTI, M.S.S.V. 2007. Cinética de fósforo com modelos matemáticos em ovinos adultos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42(10):1467-1472.

PATIÑO, R.M.; SILVA, TS.; SILVA FILHO, J.C.; MOREIRA, J.A.; VITTI, D.M.S.S. 2011. Modelos matemáticos no estudo do fluxo biológico de fósforo em ovinos que receberam na dieta níveis crescentes do mineral. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 63(2):456-464.

PORTILHO, F.P.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; McMANUS, C.M.; REZENDE, M.J.M.; LOUVANDINI, H. 2006. Minimum phosphorus requirement for Santa Inês lambs reared under tropical conditions. *Small Ruminants Research* 63(1):170-176.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. 1974. *Análises químicas em plantas*. ESALQ/USP, Piracicaba, 56p.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. 2003. *Los minerales en la nutrición del ganado*. 3.ed. Ed. Acribia. Zaragoza. 637p.

SOEST, P.J. van; WINE, R.H. 1967. Use of detergent in the analysis of farmers feed. IV. Determination of plant cell wall constituents. *Journal of Association of Analytical Chemistry* 50(1):50-55.

VITTI, D.M.S.S.; KEBREAD, E.; ABDALLA, A.L.; DE CARVALHO, F.F.; DE RESENDE, K.T.; CROMPTON, L.A.; FRANCE, J. 2000. A kinetic models of phosphorus metabolism in growing goats. *Journal of Animal Science* 78(10):2706-2716.